

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FERHAT ABBAS SETIF-1

FACULTE DE TECHNOLOGIE

THESE

Présentée au Département de génie des procédés

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: Génie des procédés Option: Génie des Procédés Pharmaceutiques

Par

M^{elle} Mouna MEHRI

THEME

**Synthèse, évaluation électrochimique et classique de l'activité
biologique et de l'efficacité inhibitrice de corrosion d'une série d'acides
 α -aminophosphoniques : Investigation expérimentale et théorique**

Soutenue le.../.../2019 devant le Jury:

MERBAH-ELKOLLI Meriem	Présidente	Professeur	U.F.ABBAS. SETIF-1
CHAFAA Salah	Rapporteur	Professeur	U.F.ABBAS. SETIF-1
DOUADI Tahar	Examineur	Professeur	U.F.ABBAS. SETIF-1
HARKAT Hassina	Examinatrice	Professeur	U.M.B. BATNA 2
DJEBAILI Abdelbaki	Examineur	Professeur	U.H.L. BATNA 1
MESSIKH Nabil	Examineur	M.C.A	U.20 AOUT 1955 Skikda
HELLAL Abdelkader	Invité	M.C.A	U.D.B Khmis Miliana

Je Dédie ce modeste Travail

*À la mémoire de ma très chère maman et ma très chère sœur Fatma
elles nous ont laissé un vide immense, que dieu les accueille dans son
vaste paradis.*

À mon cher papa que dieu le préserve pour nous.

*À mes frères Azzedine, Nabil et sa femme Radhia ainsi que leurs
enfants Hind et Rahimou.*

À ma chère sœur Mira et son mari.

À tous ceux qui me sont chers.

.....MEHRI MOUNA.....

Remerciements

Avant toute chose, je remercie DIEU, le tout-puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience pour finir ce travail.

Cette thèse de doctorat en sciences a été réalisée au laboratoire d'Electrochimie des Matériaux Moléculaires et Complexes (LEMMC) de l'université Ferhat ABBAS Sétif-1 sous la direction du Pr S.CHAFAA.

Je tiens à remercier le Professeur CHAFAA Salah de m'avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir proposé ce sujet de thèse. L'intérêt qu'il a porté à mon travail et la confiance qu'il m'a constamment témoignée étaient très motivants pour moi.

J'adresse mes sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail: le Pr. M. MERBAH-ELKOLLI, le Pr. T. DOUADI, le Pr. H.HARKAT, le Pr. A.DJEBAILI, le Dr. N. MESSIKH (MCA) et le Dr. A. HALLEL (MCA) pour avoir accepté de lire ce manuscrit et de m'avoir apporté leur point de vue sur mon travail.

Mes remerciements pour le Pr. KHANNOUF et tous les membres du laboratoire de biochimie (Laboratoire de phytothérapie appliquée aux maladies chroniques) à Sétif pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

J'adresse mes remerciements particuliers à Mr N. CHAFAI, Mr. K. MOKHNACHE, A. HALLEL, M^{me} L. OUKSEL, M^{me} S. GHEDJATI et M^{me} W. DJAOUT pour leurs précieux conseils.

Je remercie chaleureusement ma petite famille du laboratoire LEMMC, Mesdemoiselles : Khalissa Benbouguerra, Wahiba Moumeni, Mesdames : Rachida Kerkour, Hakima Ait Youssef, Meriem Djenane, Samia Zaout, Samia Mammeri, Rebiha Daamiche, et sans oublier les ingénieurs de laboratoire, Mesdames : S. RECHIDI, F.BOUDJEMAA. Et mon amie Farah.

Je remercie toute ma famille et mes amis pour leurs soutiens durant ce travail.

Je remercie en fin, toute personne qui m'a aidé de près ou de loin.



Table des matières

TABLE DES MATIERES

<i>Table des matières</i>	<i>i</i>
---------------------------------	----------

<i>Listes des figures, Schémas et tableaux</i>	<i>vi</i>
--	-----------

Introduction générale	01
------------------------------------	-----------

Chapitre I : Rappels bibliographique

I.1. Généralité sur les phosphonates	06
I.1.1. Les composés organophosphorés	06
I.1.2. Les phosphonates	07
I.1.3. Bref historique	07
I.1.4. Propriétés des phosphonates	08
I.1.5. Classification des phosphonates	09
I.1.5.1. Les α -aminophosphonates	09
I.1.5.2. Les bisphosphonates	09
I.1.5.3. Les nucléosides phosphonates	10
I.1.5.4. Les α -hydroxyphosphonates	10
I.1.5.5. Les alkyles-phosphonates et les aryles-phosphonates	11
I.1.5.6. Les polyphosphonates	11
I.1.6. Méthodes de synthèse des composés phosphonates	11
I.1.6.1. Réaction de Michaelis-Arbuzov	11
I.1.6.2. Réaction de Michaelis-Becker	12
I.1.6.3. Réaction d'Abramov et Pudovik	12
I.1.6.4. Réaction de Kabachnik-Fields	13
I.1.6.5. Réactions pour l'obtention des acides α -aminophosphoniques	14
I.1.7. Toxicologie	15
I.1.8. Domaines d'applications des phosphonates	15
I.1.8.1. La biologie, médecine et pharmacologie	15
I.1.8.2. Dans la corrosion	19
I.1.8.3. Industrie agriculture	20
I.1.8.4. Dans l'industrie	21
I.2. Activité antioxydante	21
I.2.1. Définition du stress oxydant	22
I.2.2. Radicaux libres	22

I.2.2.1. Les sources des radicaux libres	23
I.2.3. Les antioxydants	23
I.2.3.1. Les sources des antioxydants	24
I.2.3.2. Usage des antioxydants	24
I.2.3.3. Mécanismes d'antioxydation	25
I.3. Activité anti-inflammatoire	25
I.3.1. Inflammation	25
I.3.2. Types d'inflammation	26
I.3.2.1. L'inflammation aigüe	26
I.3.2.2. L'inflammation chronique	26
I.3.3. Les anti-inflammatoires	26
I.3.3.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	26
I.3.3.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	27
I.3.3.3. Les anti-inflammatoire d'origine végétale	27
I.4. Activité antibactérienne	28
I.4.1. Les antibiotiques	29
I.4.2. Critères de classification	29
I.4.2.1. Origine.....	29
I.4.2.2. Mode d'action.....	29
I.4.2.3. Spectre d'activité	29
I.4.2.4. Nature chimique.....	29
I.4.2.5. Modalités d'action	29
I.4.3. Mode d'action des antibiotiques	30
I.4.3.1. Action sur la paroi bactérienne	30
I.4.3.2. Destruction de la membrane cellulaire	31
I.4.3.3. Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique	31
I.4.3.4. Action sur la synthèse de l'ADN	31
I.4.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques	31
Références bibliographiques.....	32

Chapitre II : Analyses et méthodes expérimentales

II.1. Introduction	39
II.2. Méthodes de caractérisations physicochimiques	39
II.2.1. Méthode de mesure de la température de fusion.....	39

II.2.2. Analyse élémentaire	39
II.2.3. Caractérisation spectroscopique.....	40
II.2.3.1. Spectrophotométrie UV-Visible.....	40
II.2.3.2. Spectroscopie FT-IR.....	41
II.2.3.3. Spectroscopie Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	42
II.3. Méthodes d'évaluation des activités biologiques	42
II.3.1. Réactifs et solvants.....	42
II.3.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	44
II.3.2.1. Méthode de DPPH.....	44
II.3.2.2. Méthode de blanchissement du β - carotène	45
II.3.2.3. Méthode de FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)	47
II.3.2.4. Méthode de la voltammétrie cyclique (VC)	48
II.3.2.4.1. Principe de la voltampérométrie cyclique.....	48
II.3.2.4.2. Matériels utilisés pour la VC.....	48
II.3.2.4.3. Mode opératoire et condition de travail	50
II.3.3. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> (Inhibition de la dénaturation des protéines)	51
II.3.3.1. Préparation de la solution protéine	52
II.3.3.2. Préparation de l'échantillon	52
II.3.4. Méthode utilisée pour l'évaluation des propriétés antibactériennes	52
II.3.4.1. Méthodes d'étude sur milieu solide	52
II.3.4.2. Micro-organismes étudiés	53
II.3.4.3. Ensemencement	54
II.3.4.4. Dépôt des disques	54
II.3.4.5. Incubation et lecture	54
II.3.5. Essai de l'activité hémolytique <i>in-vitro</i> des acides α -aminophosphoniques synthétisés	54
II.3.5.1. Préparation de la suspension de globules rouges	55
II.3.5.2. Préparation des échantillons des molécules synthétisées.....	55
II.4. Méthode utilisée pour les tests de corrosion.....	55
II.4.1. Gravimétrie	56
II.4.2. Dispositif et protocole expérimental	57
II.4.2.1. Spécimen.....	57
II.4.2.2. Préparation des spécimens pour l'analyse gravimétrique	57

II.4.2.3. Préparation des solutions électrolytiques.....	58
II.4.2.4. Mode opératoire.....	59
II.5. Calculs théoriques	59
II.5.1. Calculs de chimie quantique	59
II.5.1.1. Théorie de la fonctionnelle de la densité “DFT”	60
II.5.2. Simulation de la dynamique moléculaire	61
Références bibliographique	63

Chapitre III : Synthèse et caractérisation

III.1. Introduction	68
III.2. Réactifs et solvants utilisés	68
III.3. Montage utilisé pour la synthèse et la séparation	69
III.4. Choix de réaction et synthèse des molécules ciblées	69
III.4.1. Synthèse de l'acide N-Ethyliminodimethylenediphosphonique (N-EDMPA).....	70
III.4.2. Synthèse de l'acide N-Propyliminodimethylenediphosphonique (N-PDMPA).....	70
III.4.3. Synthèse de l'acide Ethylenediamine tetra-methylenephosphonique (EDTMP)	71
III.5. Mécanisme réactionnel	71
III.6. Caractérisation des produits synthétisés	73
III.6.2. Température de fusion.....	74
III.6.2. Analyse élémentaire	74
III.6.3. Caractérisation spectroscopique	74
III.6.3.1. Caractérisation des produits synthétisés par la spectrophotométrie UV-Vis	74
III.6.3.2. Caractérisation des produits synthétisés par spectroscopie FT-IR	77
III.6.3.3. Caractérisation des produits synthétisés par RMN ^1H , RMN ^{13}C , RMN et RMN ^{31}P	80
III.6. Conclusion.....	86
Références bibliographiques.....	87

Chapitre IV : Activité biologique et pharmaceutique

IV.1. Évaluation de l'activité antioxydante	88
IV.1.1. Activité de piégeage de radical DPPH.....	88
IV.1.2. Méthode de blanchissement du β - carotène	90
IV.1.3. La réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)	93
IV.1.4. Méthode de la voltammétrie cyclique (VC)	94

IV.1.4.1. Génération électrochimique et comportement voltammétrique du radical superoxyde	95
IV.1.4.2. Comportement électrochimique du radical superoxyde en présence d’N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP, et de BHT	95
IV.1.4.3. L’activité de piégeage et la détermination des valeurs IC ₅₀	97
IV.1.4.3. Paramètres thermodynamiques	97
IV.2. Évaluation de l’activité anti-inflammatoire (Inhibition de la dénaturation des protéines)	99
IV.3. Evaluation des propriétés antibactériennes	101
IV.4. Essai de l’activité hémolytique des molécules synthétisées	103
IV.5. Calculs de chimie quantique	105
IV.5.1. Propriétés structurales et électroniques	105
IV.5.2. Surfaces du potentiel électrostatique moléculaire (MEP)	108
IV.5.3. Charges atomiques des molécules N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP	110
Références bibliographiques.....	113

Chapitre V : Propriété inhibitrice de corrosion

V. 1. Introduction	116
V.2. Analyse gravimétrique	116
V.2.1. Effet de la concentration sur la perte de masse, la vitesse de corrosion et l’efficacité inhibitrice	116
V.2.2. Isothermes d’adsorption et détermination des paramètres thermodynamiques	120
V.2. Simulation de la dynamique moléculaire du processus d’adsorption.....	123
V.2.1. Configurations d’adsorption entre les inhibiteurs étudiés et la surface du Fe(110)	123
V.3. Conclusion.....	125
Références bibliographique	126
Conclusions général	127

Liste des figures

Chapitre I.

Figure I. 1. Balance radicaux libre /antioxydants	22
--	----

Chapitre II.

Figure II. 1 : Dispositif expérimental utilisé pour les mesures à potentiel contrôlé	49
Figure II. 2: Montage expérimental utilisé pour les mesures voltamétriques	51
Figure II. 3 : Pièces d'acier au carbone utilisées au cours des essais gravimétriques	58
Figure II. 4: Echantillons étudiés avant et après polissage par un appareil polisseur.....	58

Chapitre III.

Figure III. 1: Spectre UV-Vis dans le DMSO: (a) N-EDMPA et d'éthylamine. (b) N-PDMPA et d'propylamine. (c) EDTMP et d'éthylènediamine	75
Figure III. 2: Spectres UV-Vis enregistré en DMSO $C_m=500 \mu\text{g/mL}$; $l=1\text{cm}$, des composés N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP	76
Figure III.3: Spectre IR d'éthylamine et d'acide N-Ethyliminodimethylenediphosphonique (N-EDMPA)	77
Figure III.4: Spectre IR de propylamine et d'acide N-Propyliminodimethylene diphosphonique (N-PDMPA)	77
Figure III.5: Spectre IR d'éthylènediamine et d'acide Ethylenediamine tetramethylenephosphonique (EDTMP)	78
Figure III.6: Spectre IR de formaldéhyde	78
Figure III.7: Spectre RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P de N-EDMPA.....	81
Figure III.8: Spectre RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P de N-PDMPA	83
Figure III.9: Spectre RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P de EDTMP	85

Chapitre IV.

Figure. IV. 1 : Activité de piégeage radicalaire de N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT avec différentes concentrations	89
Figure. IV.2: IC_{50} de N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT, (valeur moyenne $\pm$ S.D pour $n=3$)	90

Figure IV. 3: Activité antioxydante des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP, BHT, Vit C et du contrôle négatif dans le test du blanchissement de β -carotène	92
Figure IV. 4: Activité antioxydante (AA%) déterminée après 24 h, pour les molécules testées : N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et Vit C (valeur moyenne $\pm$ S.D pour n=3)	92
Figure IV. 5: Variation de l'absorbance des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et du standard BHT à différentes concentrations	93
Figure IV.6: Voltamogrammes cycliques de (a) DMSO - Bu_4NBF_4 , 0.1 M (b) $\text{O}_2^{\bullet-}$ en milieu DMSO - Bu_4NBF_4 0.1 M avec une vitesse de balayage, $v = 20 \text{ mV} / \text{s}$	95
Figure IV.7 : Evolution des voltamogrammes cycliques de $\text{O}_2^{\bullet-}$ enregistrés en présence de différents volumes de N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT, en milieu (DMSO - Bu_4NBF_4 ; 0.1 M) une vitesse de balayage = $20 \text{ mV} / \text{s}$	96
Figure IV. 8: Les courbes $\text{Log} (I_{\text{pa}} / I_{\text{pa}}^0 - I_{\text{pa}}) = f(\text{log } 1/C_{\text{test}})$ des composés N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT	98
Figure IV. 9: Histogramme du pourcentage de l'activité anti-inflammatoire des acides α -aminophosphoniques et de l'aspirine à $T = 72^\circ\text{C}$	100
Figure IV.10 : Effet inhibiteur des acides α -aminophosphoniques et de la gentamicine sur la souche bactérienne <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	101
Figure IV.11 : Évolution du taux d'hémolyse dans des tubes contiennent une suspension érythrocytaire en présence des acides α -aminophosphoniques synthétisés	104
Figure IV.12. Structures moléculaires optimisées par DFT pour les molécules N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP	105
Figure IV.13 : Distribution de la densité électronique totale des orbitales moléculaires à la frontière des molécules N-EDMPA, le N-PDMPA et l'EDTMP	105
Figure IV.14 : Balayage de l'énergie totale de la molécule la plus stable (EDTMP) avec l'angle dièdre sélectionné (N1-C2-C3-N4)	108
Figure IV.15 : Potentiel électrostatique moléculaire des molécules N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP	109

Chapitre V.

Figure V. 1 : Variation de la perte de masse et la vitesse de corrosion en fonction de la concentration des inhibiteurs étudiés dans le milieu agressif	117
Figure V. 2 : Variation de l'efficacité inhibitrice de corrosion des trois inhibiteurs examinés en fonction de la concentration	118

Figure V.3 : Comparaison entre les pertes de masse et les vitesses de corrosion obtenues à la concentration optimale des inhibiteurs étudiés	119
Figure V.4 : Comparaison entre les efficacités inhibitrices obtenues à la concentration optimale des trois inhibiteurs étudiés	120
Figure V.5 : Isothermes d'adsorption de (a) Langmuir, (b) Temkin (c) Frumkin de l'acier au carbone XC48 dans H ₂ SO ₄ ; 0.5M en présence des inhibiteurs étudiés à 25°C.....	121
Figure V.6 : Configurations d'équilibre d'adsorption des molécules inhibitrices sur la surface Fe (110) : (a) EDTMP, (b) N-EDMPA et (c) N-PDMPA. À gauche: vue de dessus et à droite: vue de profil	124

Liste des schémas

Chapitre I.

Schéma I. 1: Comparaison phosphate-phosphonate	7
Schéma I. 2 : Réaction d'Alexander Erminingeldovich Arbuzov	8
Schéma I. 3 : Structures des (a) α -aminophosphonates, (b) acides α -aminophosphoniques (b) acides aminés	9
Schéma I. 4: La différence entre les structures des acides biphosphoniques (a), BPs (b) et PPs (c)	10
Schéma I. 5 : La différence entre la structure des nucléosides phosphonates (a) et nucléosides (b)	10
Schéma I. 6 : Structure chimique des (a) α -hydroxyphosphonates et (b) acides α -hydroxyphosphoniques	10
Schéma I. 7 : Structure chimique des alkyles-phosphonates et des aryles-phosphonates, (a) acide phosphonique et (b) ester phosphonique	11
Schéma I. 8 : Structure chimique des polyphosphonates (R ¹ : Alkylène, arylène ; R, R ² : H, Alkyle, Aryle)	11
Schéma I. 9 : Réaction de Michaelis-Arbuzov.....	12
Schéma I. 10 : Réaction de Michaelis-Becker	12
Schéma I. 11 : Réaction d'Abramov et Pudovik	13
Schéma I. 12 : Réaction de Kabachnik-Fields	13
Schéma I. 13 : Le mécanisme de la réaction de Kabachnik-Fields	14
Schéma I. 14 : Réaction de préparation des acides α -aminométhylphosphoniques d'après Moedritzer-Irani	14

Schéma I. 15 : Synthèse des acides α -aminophosphoniques	15
Schéma I. 16 : Structures de certains exemples des médicaments à base de phosphonates utilisés dans le traitement du cancer des os	17
Schéma I. 17 : Métabolisme de nucléosides	17
Schéma I. 18 : Nucléosidiques phosphonates. (a) (S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl) cytosine (HPMPC, cidofovir). (b) bis (pivaloyloxyméthyle) ester du 9-(2-phosphonylméthoxyéthyle) adénine, bis (POM) PMEA ou l'Adefovir dipivoxil.....	18
Schéma I. 19: Structures chimiques des anti-inflammatoires contenant des groupements phosphonate	18
Schéma I. 20 : Exemples de médicaments acides phosphoniques utilisés comme antibiotiques	19
Schéma I. 21 : La structure chimique de l'inhibiteur étudié par Saker et al.....	20
Schéma I. 22 : Les structures chimiques des inhibiteurs étudiés par Verma et al	20
Schéma I. 23 : Structures des composés phosphonates utilisés dans l'agriculture	21

Chapitre II.

Schéma II. 1 : Réduction du radical DPPH [•] par A-H, où (AH) est un composé capable de céder un H au radical DPPH	44
--	----

Chapitre III.

Schéma III. 1 : Réaction de Moedritzer – Irani	69
Schéma III. 2 : Séquence réactionnelle générale de synthèse de l'acide N-Ethyliminodimethylenediphosphonique (N-EDMPA)	70
Schéma III. 3 : Séquence réactionnelle générale de synthèse de l'acide N-Propyliminodimethylenediphosphonique (N-PDMPA)	71
Schéma III. 4 : Séquence réactionnelle générale de synthèse d'acide Ethylenediamine tétraméthylénephosphonique (EDTMP)	71
Schéma III. 5 : Mécanisme réactionnel proposé pour la formation des acides N-EDMPA et N-PDMPA.....	72
Schéma III. 6 : Mécanisme réactionnel proposé pour la formation de l'acide EDTMP	73

Liste des tableaux

Chapitre I.

Tableau I. 1 : Principales familles des composés organophosphorés	6
--	---

Chapitre II.

Tableau II. 1 : Masses et températures d'ébullition des solvants utilisés	42
Tableau II. 2 : Structures chimiques et propriétés physique des réactifs utilisés	43
Tableau II. 3: Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	53
Tableau II. 4: Composition chimique de l'acier au carbone XC48 en % massique	57

Chapitre III.

Tableau III. 1: Caractères physicochimiques principaux des réactifs utilisés	68
Tableau III. 2 : Caractères physicochimiques des solvants utilisés.....	69
Tableau III. 3 : Caractères physicochimiques principaux des produits synthétisés	74
Tableau III. 4 : Pourcentage expérimental et théorique des éléments C, H et N dans le composé N-PDMPA	74
Tableau III. 5 : Paramètres spectrales caractéristiques des spectres UV-Vis des produits de départ et des acides synthétisés enregistrés en DMSO à température ambiante.....	76
Tableau III. 6 : Principaux pics caractéristiques des vibrations IR des produits synthétisés et leurs produits de départ correspondants	80

Chapitre IV.

Tableau IV.1 : Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda=517\text{nm}$ pour les molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et le standard BHT	89
Tableau IV.2: Variation de l'absorption des produits étudiés en fonction du temps, mesurée à $\lambda = 470 \text{ nm}$	91
Tableau IV.3 : Concentration effective EC_{50} des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et de BHT (valeurs moyenne $\pm$ S.D pour $n=3$)	94
Tableau IV.4 : IC_{50} , K_b et ΔG° des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT obtenues par les tests d'inhibition des anions superoxyde	98

Tableau IV.5: Activité anti-inflammatoire des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP, et de l'aspirine exprimé en %.....	99
Tableau IV.6: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne au tour des disques en présence des molécules N-EMDPA, N-PMDPA, EDTMP et du standard	102
Tableau IV.7 : Absorbances mesurées en fonction de la concentration pour évaluer l'activité hémolytique <i>in vitro</i>	103
Tableau IV.8: La réactivité chimique globale des molécules N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP, calculée par B3LYP / 6-31G (d, p)	106
Tableau IV.9: Charges atomiques des molécules N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP calculées par B3LYP / 6-31G (d, p)	111

Chapitre V.

Tableau V. 1: Les paramètres de corrosion obtenus par gravimétrie de l'acier au carbone XC48 en absence et en présence des inhibiteurs étudiés à différentes concentrations et à 298 K après 24h d'immersion dans la solution corrosive H_2SO_4 ; 0.5M.....	117
Tableau V. 2: Paramètres thermodynamiques de l'adsorption des inhibiteurs étudiés à la surface de l'acier au carbone XC48 dans H_2SO_4 ; 0.5M à 25°C.....	223
Tableau V.3: Les énergies calculées entre les molécules inhibitrices étudiées et la surface du Fe (110)	225



Introduction générale

Introduction générale

Depuis les années cinquante du 19^{ème} siècle, où le russe *Menschutkin* [1] a réalisé la première synthèse des composés phosphonates, de nombreux chercheurs dans le monde sont intéressés à cette catégorie des molécules et des travaux concernant leurs synthèses et leurs applications, ce fort intérêt est dû à leur grande stabilité par rapport aux analogues phosphates [2].

En effet, la faible stabilité métabolique des phosphates diminue fortement la biodisponibilité des médicaments et par conséquent leur efficacité, constitue un problème crucial pour la conception d'analogues de molécules plus stables et aussi actives. La substitution d'un atome d'oxygène dans les phosphates par un atome de carbone dans les composés phosphonates permet généralement d'accéder à des composés capables de résister à l'hydrolyse enzymatique [3]. Les molécules possédantes un groupement phosphonate ont un champ d'activité biologique très étendu [2].

Les acides α -aminophosphoniques en particulier, sont considérés comme une catégorie importante de dérivés phosphonates en raison de leurs applications biologiques exceptionnelles. Ils ont des structures analogues à ceux des acides aminés [4], dans lesquels la fonction acide carboxylique est remplacée par un groupement acide phosphonique $\text{PO}(\text{OH})_2$, c'est pourquoi les acides α -aminophosphoniques se trouvent en compétition avec leurs analogues d'acides aminés pour accéder aux centres actifs d'enzymes ou d'autres cibles cellulaires. Ceci, ajouté à leur faible toxicité, fait des acides α -aminophosphoniques une classe importante d'antimétabolites et une source potentielle de composés médicamenteux [5]. Dans ce domaine, les acides α -aminophosphoniques peuvent être considérés comme: pesticides [6], fongicides [7], inhibiteurs de la protéase du VIH [8], antiviraux [9] et agents antitumoraux [10].

Ces molécules se comportent en tant qu'agents chélateurs efficaces des métaux de transitions et des métaux lourds [11] et elles trouvent également des applications vitales dans l'agronomie.

La structure, la solubilité des acides phosphoniques en milieu aqueux et leur capacité à former des complexes métalliques stables notamment avec le fer, font de ces entités des inhibiteurs de corrosion très efficaces exploités pour prolonger la durée de vie des installations métalliques soit sanitaires ou industrielles.

Dans les dernières décennies, des articles synthétiques intensifs ont été publiés dans la préparation des dérivés α -aminophosphonates, cependant, la synthèse *one-pot* (réaction à trois composants) d' α -aminophosphonates, reste la réaction favorite en raison de son parcours polyvalent et le haut rendement de cette méthode [12].

Dans ce contexte, les tendances actuelles de notre équipe de recherche, laboratoire LEMMC, ont été orientées vers la synthèse de nouvelles dérivées phosphonates et α -aminophosphonates et l'étude de leurs activités biologiques, leurs propriétés complexantes et à leurs applications dans la lutte contre la corrosion [13-23].

A cet effet et pour contribuer à l'enrichissement de la catégorie des molécules multidisciplinaires, nous avons synthétisé trois acides α -aminophosphoniques, puis on a étudié leurs applications biologiques et initialisé l'étude de leurs propriétés inhibitrices de corrosion.

Le manuscrit est subdivisé en cinq chapitres:

- Dans le premier chapitre, nous avons présenté des notions générales sur les phosphonates, leurs dérivées, leurs méthodes de synthèse et une brève synthèse bibliographique sur les applications étudiées: activités antioxydants, anti-inflammatoires et antibiotiques... etc.

- Le second chapitre décrit les procédés expérimentaux appliqués dans la synthèse et les méthodes physicochimiques d'analyses exploitées pour la caractérisation des molécules synthétisées.

- Le troisième chapitre regroupe les résultats de la synthèse et la caractérisation des acides α -aminophosphoniques, préparés selon la réaction de *Moedritzer-Irani*.

- Dans le quatrième chapitre nous avons exposé les résultats et la discussion de l'étude des propriétés bioactives des molécules synthétisées ainsi que les résultats de calcul de chimie quantique.

- Le cinquième chapitre, regroupe les résultats expérimentaux de l'étude des propriétés inhibitrices de corrosion et les résultats théoriques établis par la simulation de la dynamique moléculaire.

Nous terminons notre thèse par une conclusion générale qui résumera l'ensemble des résultats obtenus.

Références bibliographiques

- [1] N. Menshutkin, Ueber die Einwirkung des Chloracetyls auf phosphorige Säure, *Ann Chem Pharm.* 133 (1865) 317–320.
- [2] (a) D.F. Wiemer, Synthesis of nonracemic phosphonates, *Tetrahedron* 53(1997) 16609-16644.
- (b) L. Azema, R. Baron, S. Ladame, Targeting enzymes with phosphonate-based inhibitors: mimics of tetrahedral transition states and stable isosteric analogues of phosphates, *Current Enzyme Inhibition* 12 (2006) 61-72.
- [3] E. Breuer, *The Chemistry of Organophosphorus Compounds*, vol. 4, John Wiley & Sons, New York, New Y., USA, 1996.
- [4] R.A. Cherkasov, V.I. Galkin, The Kabachnik–Fields reaction: synthetic potential and the problem of the mechanism, *Russ. Chem. Revol.* 67 (1998) 857–882.
- [5] P. Kafarski, B. Lejczak, Aminophosphonic acids of potential medical importance, *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents* 1 (2001) 301–312.
- [6] C. Fest, K.J. Schmidt, *The Chemistry of Organophosphorus Pesticides*, Springer, **1982**.
- [7] M.S. Bhatia, P. Pawanjit, Phosphorus containing heterocycles as fungicides: synthesis of 2,2' diphenylene chlorophosphonate and 2,2' diphenylene chlorothiophosphonate, *Experientia* 32 (1976) 1111.
- [8] B. Stowasser, K-H. Budt, Li Jian-Qi, A. Peyman, D. Ruppert, New hybrid transition state analog inhibitors of HIV protease with peripheric C₂-symmetry, *Tetrahedron Lett* 33 (1992) 6625–6628.
- [9] J. Huang, R. Chen, An overview of recent advances on the synthesis and biological activity of α -aminophosphonic acid derivatives, *Heteroatom Chemistry* 11 (2000) 480–492.
- [10] G. Lavielle, P. Hautefaye, C. Schaeffer, J.A. Boutin, C.A. Cudennec, A. Pierré, New α -amino phosphonic acid derivatives of vinblastine: chemistry and antitumor activity, *Journal of Medicinal Chemistry* 34 (1991) 1998–2003.
- [11] N. Aliouane, T. Douadi, J.J. Helesbeux, MA. Khan, G. Bouet, S. Chafaa, O. Duval, Synthesis of New Benzylic Di-, Tri-, and Tetraphosphonic Acids as Potential Chelating Agents, *Phosphorus, Sulfur, Silicon and the Related Elements* 186 (2011) 354-364.
- [12] (a) R. Ghosh, S. Maiti, A. Chakraborty, D.K. Maiti, In(OTf)₃ catalysed simple one-pot synthesis of α -amino phosphonates, *J. Mol. Catal. A.: Chemical* 210 (2004) 53-57.
- (b) A. Heydari, H. Hamadi, M. Pourayoubi, A new one-pot synthesis of α -amino phosphonates catalyzed by H₃PW₁₂O₄₀, *Catal. Commun.* 8 (2007) 1224-1226.

- [13] V. Bohmer, W. Vogt, S. Chafaa, J. Meullemestre, M.J. Schwing, F. Vierling, (o-Hydroxyphenyl)methylphosphonic acids: Synthesis and potentiometric determinations of their pK_a Values, *Helv.Chim. Acta* 76 (1993)139–149.
- [14] F. Benghanem, S. Chafaa, G.M. Bouet, M.A. Khan, Potentiometric studies of 4-mono(dihydroxyphosphonyl) methylphenol and 2,6-bis(dihydroxyphosphonyl) methyl 4-methyl phenol complexes with cobalt(II),nickel (II), copper (II), zinc (II) and cadmium (II), *Phosphorous, Sulfur, Silicon, Relat Elem* 170(2001) 159–169.
- [15] N. Aliouane, S. Chafaa, T. Douadi, J. J. Helesbeux, M.A. Khan, G. Bouet, O. Duval, Novel polydentate phosphonic acids: Protonation and stability constants of complexes with Fe(III) and Cu(II) in aqueous medium , *Heteroatom Chemistry* 21 (2010) 51–62
- [16] A. Hellal, S. Chafaa, N. Chafai, Synthesis, Antibacterial and Antifungal Screening of Three new of Alpha-aminophosphonic acids, *International Journal of Scientific & Engineering Research* 6 (2015) 1622-1627.
- [17] A. Hellal, S. Chafaa, N. Chafai, Synthesis, characterization and computational studies of three α -amino-phosphonic acids derivatives from Meta, Ortho and Para aminophenol , *J. Mol. Struct.* 1103 (2016) 110-124.
- [18] A. Hellal, S. Chafaa, N. Chafai, T. Lasnouni, Synthesis, antibacterial screening and DFT studies of series of α -aminophosphonates derivatives from aminophenols, *J. Mol. Struct.* 32 (2016) 1-8.
- [19] A. Hellal, S. Chafaa, and T. Lasnouni, An eco-friendly procedure for the efficient synthesis of diethyl α -aminophosphonates in aqueous media using natural acids as a catalyst, *Korean J. Chem. Eng* 33 (2016) 2366–2373.
- [20] N. Chafai, S. Chafaa , K. Benbouguerra, D. Daoud, A. Hellal, M. Mehri, Synthesis, characterization and the inhibition activity of a new α -aminophosphonic derivative on the corrosion of XC48 carbon steel in 0.5 M H_2SO_4 : Experimental and theoretical studies, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 70 (2017) 331–344.
- [21] L. Ouksel, S. Chafaa, R. Bourzami, N. Hamdouni, M. Sebais, N. Chafai, Crystal structure, vibrational, spectral investigation, quantum chemical DFT calculations and thermal behavior of Diethyl [hydroxy (phenyl) methyl] phosphonate, *J. Mol. Struct.* 1144(2017) 389-395.
- [22] R. Damiche, S. Chafaa, Synthesis of new bioactive aminophosphonates and study of their antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities as well the assessment of their toxicological activity, *J. Mol. Struct.* 1130 (2016) 1009-1017.

[23] K. Benbouguerra, S. Chafaa, N. Chafai, M. Mehri, O. Moumeni, A. Hellal, Synthesis, spectroscopic characterization and a comparative study of the corrosion inhibitive efficiency of an α -aminophosphonate and Schiff base derivatives: Experimental and theoretical investigations, J. Mol. Struct. 1157 (2018) 165-176.

Chapitre I
Rappels bibliographique

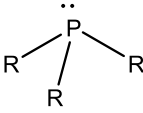
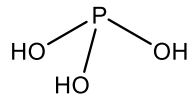
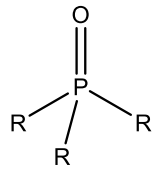
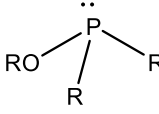
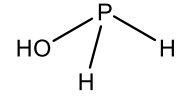
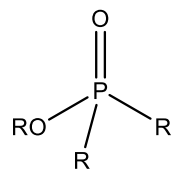
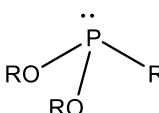
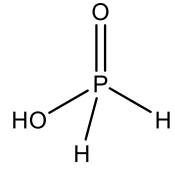
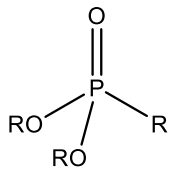
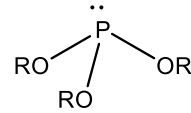
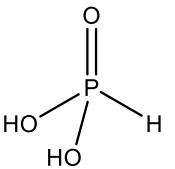
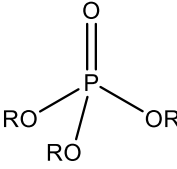
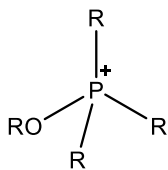
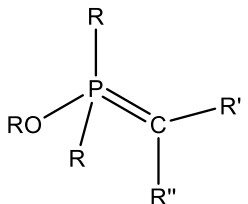
I.1. Généralité sur les phosphonates

I.1.1. Les composés organophosphorés

Un composé organophosphoré est un type de composé organique comportant au moins un atome de phosphore lié directement à un carbone.

Ces composés se répartissent en différentes classes selon le degré d'oxydation du phosphore et la nature des substituants, notamment la présence d'un atome d'oxygène ou d'un autre chalcogène [1].

Tableau I. 1 : Principales familles des composés organophosphorés [2].

 Phosphines	 Acides phosphoreux	 Oxydes de phosphines
 Phosphinite	 Acides phosphineux	 Phosphinate
 Phosphonite	 Acides phosphiniques	 Phosphonate
 Phosphite	 Acides phosphoniques	 Phosphanate
 Sel de phosphonium	 Ylure de phosphore	

I.1. 2. Les phosphonates

Phosphonates ou acides phosphoniques sont des composés organiques contenant un ou plusieurs groupements C-PO (OH)₂ ou C-PO (OR)₂ avec (R=alkyl, aryle) (Schéma I. 1). Les phosphonates sont des analogues des phosphates naturels (phosphates glycosidiques, nucléotidiques, phospholipides, phosphates produits par la glycolyse), ils ont des propriétés chimiques et biologiques différentes [3].

Dans ces composés la liaison **P-O** est remplacée par une liaison **P-C** plus stable, ce qui empêche leur hydrolyse par les phosphatases.

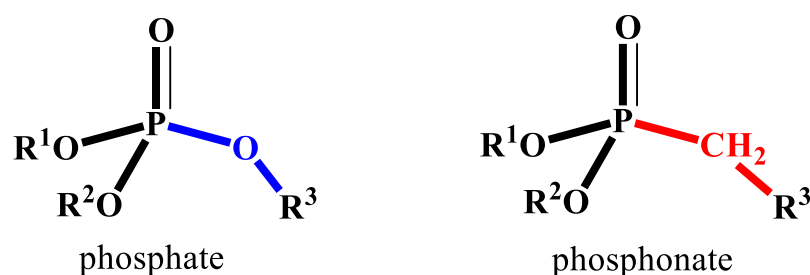


Schéma I. 1: Comparaison phosphate-phosphonate.

Les phosphonates, ainsi que leurs catégories, qui prennent une part importante des composés organiques, offrent un large champ d'applications scientifiques et progressent vers l'occupation d'une position leader dans le monde de recherche scientifique [4]. D'une manière générale, les travaux incroyables des chercheurs dans les différents domaines, notamment l'inhibition de la corrosion, biologie et santé sont les témoins d'avancées remarquables en chimie des phosphonates.

I.1.3. Bref historique

La découverte des phosphonates a été commencée depuis quelques décennies précisément en 1865 à Marbourg, quand Nicolaï Menchutkin a présenté ses travaux concernant la synthèse des biphosphonates par une réaction entre l'acide phosphoreux et les chloracétyles [5].

En 1897, Von Baeyer et Hofmann ont été continué sur la même voie par la synthèse de l'EHDP (l'acide éthane-1-hydroxy-1,1-diphosphonique) [6], de plus August Michaelis et Becker ont réagi un sel alcalin d'un phosphonate avec un halogénure pour donner un phosphonate [7].

Peu de temps après, August Michaelis et Kaehne ont préparé des phosphonates par une réaction entre un ester de phosphore trivalent et un halogénure d'alkyle [8], cette dernière est largement explorée et développée par Alexander Erminingeldovich Arbuzov [9] (Schéma I. 2).

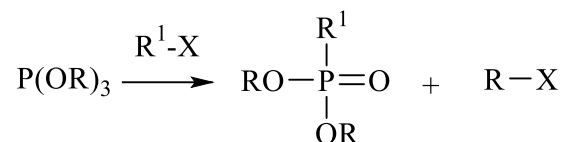


Schéma I. 2 : Réaction d'Alexander Erminingeldovich Arbuzov.

Depuis ces premières découvertes, le domaine de synthèse des phosphonates est continué en expansion et cela encouragé par les propriétés importantes des phosphonates. Parmi celles-ci, Vasily Abramov et Arkaday Pudovik, qui sont convertis des trialkylesphosphites et des dialkylesphosphites en α -hydroxyphosphonates par des attaques nucléophiliques [10, 11].

La recherche dans ce domaine n'a pas arrêté à ce stade, et la découverte a été continuée pour trouver des nouvelles dérivées phosphoniques analogues aux composés naturels, notamment les esters et les acides α -aminophosphoniques. Au début des années 1950, Martin Izrailevich Kabachnik et Ellis Fields ont montré indépendamment que la réaction d'une amine, d'un composé carbonylé et d'un phosphite de dialkyl mène à la formation des dérivés α -aminophosphonates. Cette réaction porte aujourd'hui le nom de ses créateurs et est donc connue sous le nom de réaction de Kabachnik-Fields [12, 13].

I.1.4. Propriétés des phosphonates

L'importance marquante des phosphonates dans tous les domaines scientifiques résulte de leurs propriétés physico-chimiques intéressantes, telles qu'ils :

- Sont des produits très stables dans les conditions chimiques rigoureuses et ne sont pas volatils.
- Sont des agents de chélation efficaces qui sont liés étroitement aux ions métalliques di et trivalents, de plus ils empêchent la formation des précipités insolubles et de supprimer leurs propriétés catalytiques.
- Sont des intermédiaires dans la synthèse des grandes classes de composés tels que phosphoramides, poly (alkylène (s) H-phosphonate(s)), poly (alkylène(s) phosphate(s)),

bisphosphonates....etc., à cause de leur capacité de créer des liaisons carbone-carbone de manière efficace.

- Sont biodégradables dans le sol, libération des phosphates.
- Sont moins toxiques pour l'environnement.
- Sont des produits biologiquement très actifs [14-16].

I.1.5. Classification des phosphonates

L'introduction des groupements phosphonates dans les différents composés organiques n'a pas été arrêtée, et la découverte des nouvelles classes sera continuée. Les principales catégories des phosphonates sont:

I.1.5.1. Les α -aminophosphonates

Les α -aminophosphonates et leurs dérivés sont considérés comme des analogues structuraux d'acides aminés (Schéma I. 3), qui ont trouvé une large gamme d'application dans les domaines de la chimie industrielle, agricole et médicale [17].

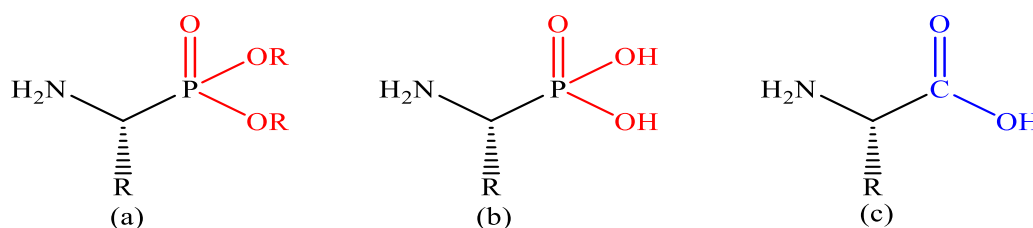


Schéma I. 3 : Structures des (a) α -aminophosphonates, (b) acides α -aminophosphoniques (c) acides aminés.

I.1.5.2. Les biphosphonates

Les biphosphonates (BPs) et les acides biphosphoniques sont des analogues structuraux des pyrophosphates inorganiques (PPs) dans lesquels un atome d'oxygène a été remplacé par un atome de carbone (Schéma I. 4). Ce sont des composés organiques synthétiques, caractérisés par une structure contenant le groupement P-C-P, et ils ont la propriété de se lier avec des ions métalliques par coordination d'un atome d'oxygène de chaque groupe phosphonate avec le cation. Ce n'est que durant ces quarante dernières années que les BPs ont été utilisés comme médicaments et en particulier dans le traitement de pathologies associées au métabolisme osseux [18].

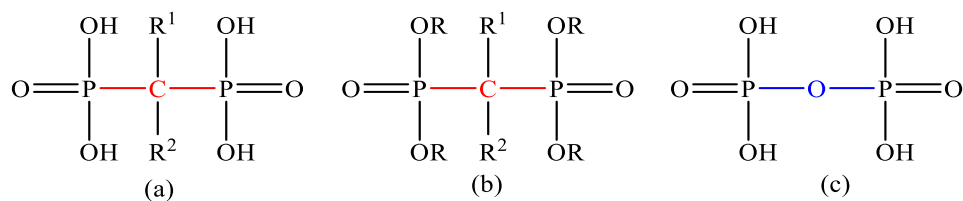


Schéma I. 4: La différence entre les structures des acides biphosphoniques (a), BPs (b) et PPs (c).

I.1.5.3. Les nucléosides phosphonates

Les nucléosides phosphonates sont des analogues structuraux des nucléosides naturels et des acides nucléiques, où le groupement $(\text{O}-\text{PO}(\text{OR})_2)$ est remplacé par le groupement phosphonate $(\text{CH}_2-\text{PO}(\text{OR})_2)$ (Schéma I. 5). Ceux-ci peuvent agir comme des inhibiteurs compétitifs d'ADN ou d'ARN polymérases virales et cellulaires ou, en variante, peuvent être incorporés dans des ADN croissants ou des brins d'ARN, provoquant une terminaison de chaîne [19, 20].

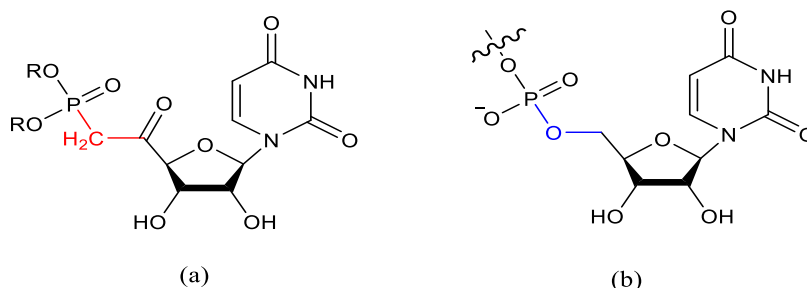


Schéma I. 5 : La différence entre la structure des nucléosides phosphonates(a) et nucléosides (b).

I.1.5.4. Les α -hydroxyphosphonates

Les α -hydroxyphosphonates sont des phosphonates où l'atome α -carbone lié au phosphore est substitué par le groupement hydroxyle. Ils ont attiré l'attention d'un grand nombre de scientifique en raison de leurs activités biologiques [21] (Schéma I. 6).

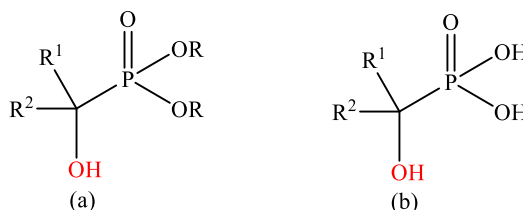


Schéma I. 6 : Structure chimique des (a) α -hydroxyphosphonates et (b) acides α -hydroxyphosphoniques.

I.1.5.5. Les alkyles-phosphonates et les aryles-phosphonates

Sont des composés organophosphoré dont le groupement phosphonates est lié à un radicales alkyle ou aryle (Schéma I. 7).

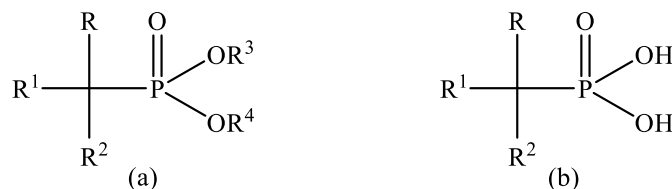


Schéma I. 7 : Structure chimique des alkyles-phosphonates et des aryles-phosphonates, (a) ester phosphonique et (b) acide phosphonique.

I.1.5.6. Les polyphosphonates

Les polyphosphonates sont des macromolécules organophosphorées dont on note une répétition d'un ou plusieurs types de motifs monomères qui portent un ou plusieurs groupements phosphoniques (Schéma I. 8). Ils présentent un large domaine d'application, notamment des applications pharmaceutiques et biomédicales qui sont dépendent largement de leur grande pureté et polydispersité [22, 23].

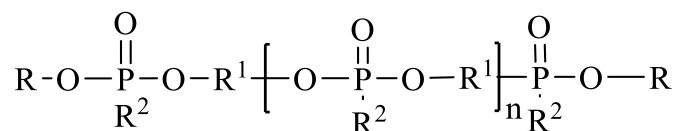


Schéma I. 8 : Structure chimique des polyphosphonates (R^1 : Alkylène, arylène ; R, R^2 : H, Alkyle, Aryle).

I.1.6. Méthodes de synthèse des composés phosphonates

Il existe de nombreuses approches synthétiques envisageables pour accéder aux composés phosphonates, nous citerons les méthodes les plus utilisées.

I.1.6.1. Réaction de Michaelis-Arbuzov

La réaction de Michaelis-Arbuzov est la plus utilisée [24], elle consiste une addition d'un trialkylesphosphite sur un halogénure d'alkyle [8,9] (schéma I. 9).

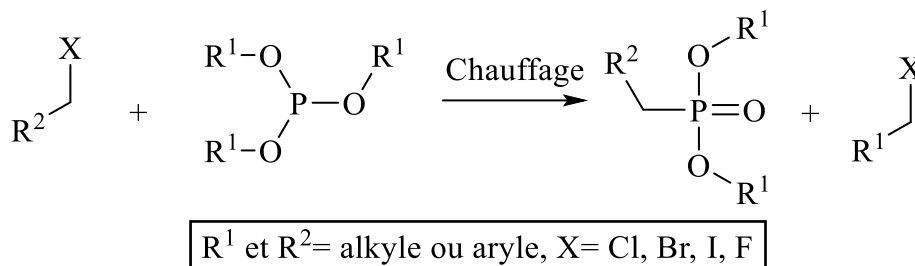


Schéma I. 9 : Réaction de Michaelis-Arbuzov.

Cette voie de synthèse comprend deux étapes principales : la première étape est une substitution nucléophile de l'halogénure par le trialkyle phosphite et la deuxième, l'halogénure libéré vient de capter un des alkyles [25].

I.1.6.2. Réaction de Michaelis-Becker

Les phosphonates peuvent également être synthétisés par la réaction de Michaelis-Becker. Il est primordial de générer l'anion d'un dialkylphosphite que l'on fait réagir sur un dérivé halogéné, l'hydru de sodium est ainsi utilisé à basse température [24] (Schéma I. 10).

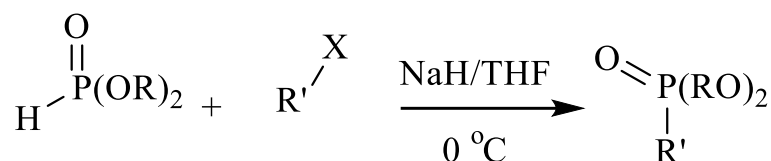


Schéma I. 10 : Réaction de Michaelis-Becker.

I.1.6.3. Réaction d'Abramov et Pudovik

Les réactions de Pudovik et Abramov représentent les plus importants modes de phosphorylation des composés organiques par la création d'un dérivé tétra-coordonné avec une liaison P-C [26, 27].

La réaction d'Abramov consiste en l'addition d'un di ou trialkylphosphite sur le groupement carbonyle pour l'obtention des α -hydroxyphosphonates [11] (Schéma I. 11, a). Dans la réaction de Pudovik les α -aminophosphonates sont obtenues par l'addition d'un di ou trialkylphosphite à la liaison C=N- d'imines [10] (Schéma I. 11, b).

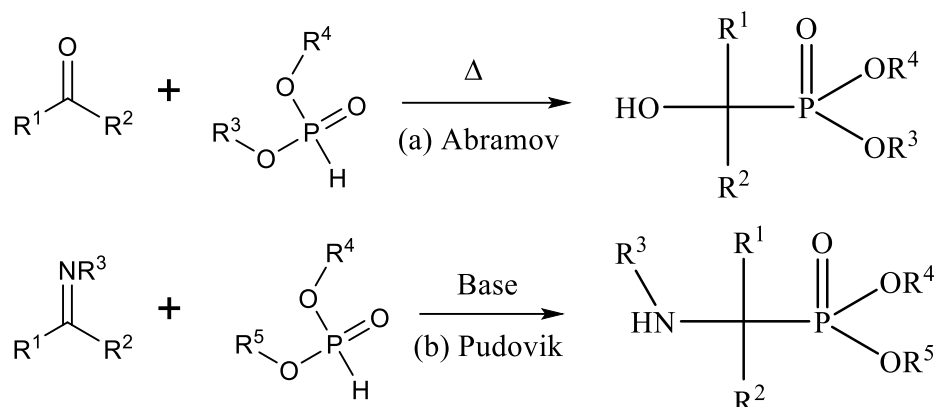


Schéma I. 11 : Réaction d'Abramov et Pudovik.

I.1.6.4. Réaction de Kabachnik-Fields

La réaction de Kabachnik-Fields (phospha-Mannich), découverte en 1952, est l'une des méthodes classiques les plus intéressantes pour la synthèse des phosphonates, notamment les α -aminophosphonates. Elle consiste à réagir en une seule fois une amine, un dérivé carbonylé et un dialkylphosphite, cela été fait par l'utilisation des acides de Lewis comme catalyseur dans la plupart des cas [28] (Schéma I. 12). Parmi les inconvénients de cette méthode est apparition des sous produit [29].

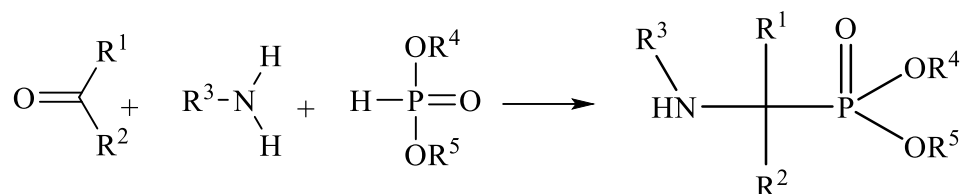


Schéma I. 12 : Réaction de Kabachnik-Fields.

Cette réaction peut se faire en plusieurs étapes. En effet, il a été raisonnablement supposé que la première étape est la formation de l'imine 3 correspondante (Schéma I. 13, voie A). Étant donné que sa formation est un processus réversible, l'application de tout moyen permettant l'élimination de l'eau formée est utile. Dans la deuxième étape, les composés ayant une liaison P-H s'ajoutent à la liaison C = N de l'imine 3, (addition du type Pudovik) pour donner les phosphonates 4 comme produit final.

Les dialkylphosphites sont capables de subir l'addition d'Abramov à la liaison C = O, donnant des α -hydroxyphosphonates 5 (Schéma I. 13, voie B).

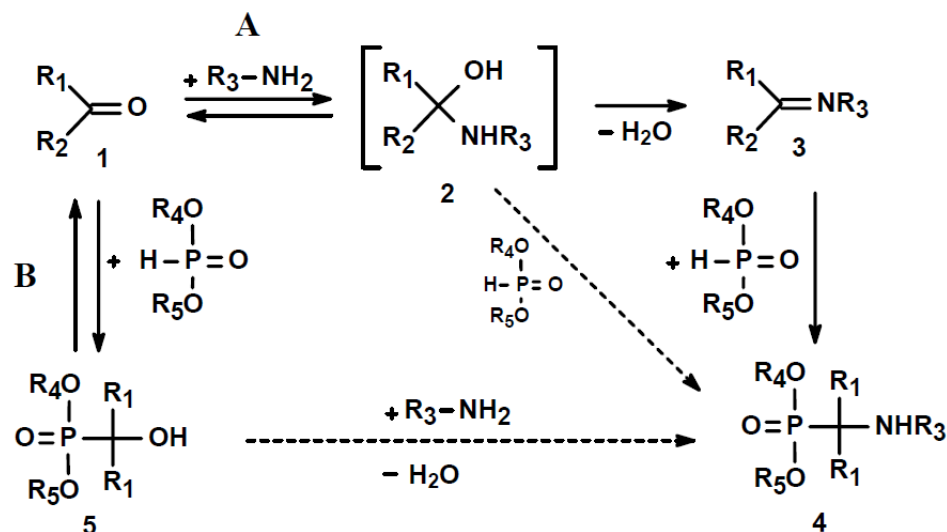


Schéma I. 13 : Le mécanisme de la réaction de Kabachnik-Fields.

Basés sur les données expérimentales, *Petrov et al* ont suggéré que la voie de la réaction *Kabachnik-Fields* dépend de la basicité de l'amine. Les amines faiblement basiques tels que les anilines, favorisent la formation d'une imine (voie A), tandis que les alkylamines tels que cyclohexylamines réagies selon la (voie B) [28].

I.1.6.5. Réactions pour l'obtention des acides α -aminophosphoniques

Après la préparation des acides et esters de mono- et poly-méthylène-diphosphoniques en 1966, Moedritzer et Irani ont développé une nouvelle procédure pour la synthèse des acides α -aminophosphoniques en se basant sur la réaction de Kabachnik-Fields. Ils ont préparé des acides α -aminométhylphosphoniques en impliquant un acide phosphoreux, formaldéhyde et une série d'amines (Schéma I. 14) [30].

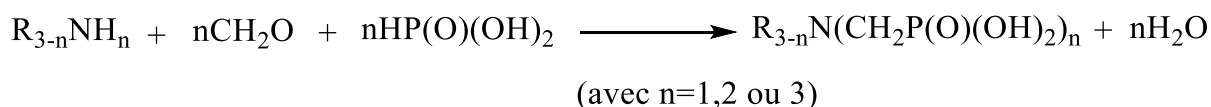


Schéma I. 14 : Réaction de préparation des acides α -aminométhylphosphoniques d'après Moedritzer-Irani.

En 1970, une autre procédure générale a été mise en vue par Roman Tyka pour la synthèse d'une série d'acides N-benzyle- α -aminophosphoniques à partir d'une réaction d'addition entre une série de bases de Schiff et du diéthylphosphite (Schéma I. 15) [31].

En 1978, une série d'acides α -aminophosphoniques a été synthétisée par Derek Redmore, en réagissant l'acide phosphoreux avec une série d'imines qu'a été préparée en

premier temps à partir d'une condensation de quelques amines avec une série d'aldéhydes [32] (Schéma I. 15).

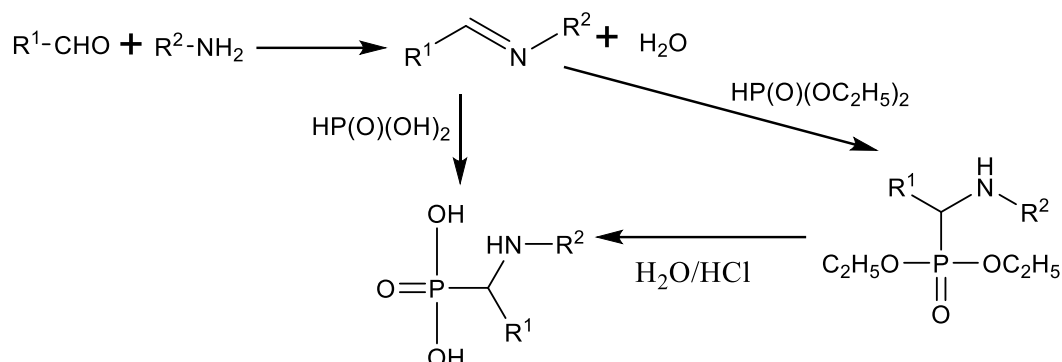


Schéma I. 15 : Synthèse des acides α -aminophosphoniques.

I.1. 7. Toxicologie

Plusieurs études montrent que la toxicité des phosphonates est faible. Pour les organismes aquatiques, par exemple, on obtient des CE_{50} (concentration efficace) entre 0.42 mg/L et 11000 mg/L alors que la concentration moyenne en phosphonate dans les eaux de surface en Europe est de 0.253 g/L, de plus le facteur de bioconcentration dans les poissons est très bas.

Les phosphonates sont peu absorbés dans le tractus gastro-intestinal et la dose absorbée est majoritairement excrétée par les reins. Pour l'homme, la toxicité des phosphonates est également faible, d'ailleurs ils sont utilisés dans la composition des médicaments [33].

I.1.8. Domaines d'application des phosphonates

Les champs d'application des phosphonates sont extrêmement nombreux et touchent pratiquement l'ensemble des aspects de la vie de tous les jours.

I.1.8.1. La biologie, médecine et pharmacologie

Les phosphonates ont suscité l'intérêt de la communauté scientifique et le nombre d'études concernant leur synthèse ou leur activité biologique ne cesse de croître. La raison d'un tel engouement provient principalement de la différence de stabilité relative des groupements phosphate et phosphonate. Les phosphates ont tendance à s'hydrolyser notamment au contact des phosphatases digestives, et par conséquent cela en fait de mauvais candidats en tant que médicaments. La substitution d'un atome d'oxygène par un atome de

carbone permet généralement d'accéder à des composés aussi actifs, mais plus stables et plus lipophiles, ce qui empêche leur hydrolyse par les phosphatases [3]. Ceci, associé à leur faible toxicité pour les mammifères, fait des phosphonates une source potentielle de composés médicaux [34].

Médicaments suppression de la croissance du cancer et tumeur

De nombreux types d'agents chimiothérapeutiques ont été révélés efficaces contre les cancers et les cellules tumorales, mais il existe des types de cancers et des tumeurs qui ne répondent pas à ces agents. Malheureusement, bon nombre de ces agents détruisent les cellules normales [35].

Les acides aminophosphonique et peptides pénètrent 4 à 5 fois plus facilement à travers les membranes des cellules cancéreuses que ceux des cellules normales [36].

La société Procter & Gamble a conclu que la N-(phosphonométhyl) glycine est particulièrement efficace dans la répression de la croissance des tumeurs, les virus ou les bactéries [37].

Des compositions pharmaceutiques constituées des dérivés de N- (phosphonométhyl) glycine utilisées pour inhiber la croissance des cancers et autres tumeurs par l'administration d'une quantité efficace soit par voie orale, rectale, ou par voie parentérale. La combinaison des dérivés de N- (phosphonométhyl) glycine avec des agents chimiothérapeutiques peuvent réprimer et réduire la croissance des cellules cancéreuses, y compris la leucémie, sans affecter les cellules normales [35].

Médicaments antiresorption, les transporteurs de métaux radioactifs

Les bisphosphonates inhibent la résorption osseuse spontanée ou induite par la parathormone ou d'autres peptides d'origine tumorale. Grâce à cette propriété, les bisphosphonates sont utilisés pour traiter les maladies dans lesquelles il existe une résorption osseuse excessive conduisant d'une part à des hypercalcémies et d'autre part à des atteintes osseuses à l'origine de douleurs et de fractures [38]. En outre, ils servent de transporteurs pour les radionucléides dans les traitements de cancer des os (samarium-153-éthylène diamine tétraméthylène phosphonate) [39].

Les bisphosphonates contenant de l'azote comme pamidronate commercialisés sous le nom de (Aredia®), aledronate (Fosamax), risendronate (Actonel), et zolendronate (Zometa),

présentés par le schéma I. 16, représente une classe importante des drogues actuellement employées pour traiter l'ostéoporose, la maladie de paget et l'hypercalcémie [40].

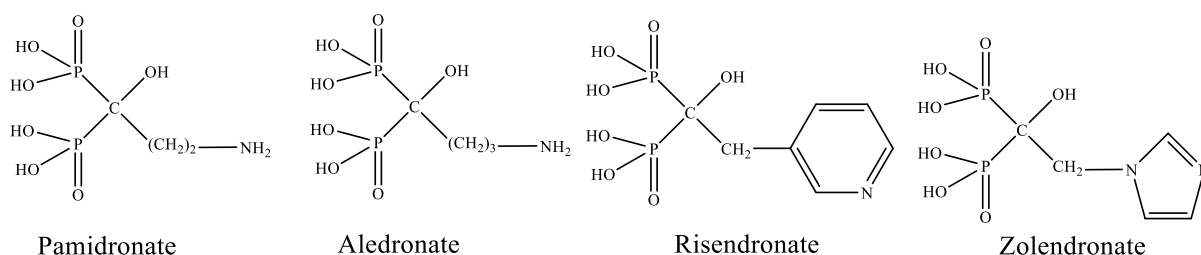


Schéma I. 16 : Structures de certains exemples des médicaments à base des phosphonates utilisés dans le traitement du cancer des os.

Les bisphosphonates sont remarquablement non-toxiques à d'autres organes et sont très bien tolérés cliniquement. Ceci peut être expliqué par l'accumulation rapide du bisphosphonate dans l'os, ayant pour résultat une demi-vie très courte de plasma et une basse exposition du tissu viscéral [41].

Les prodrogues antivirales

La pluparts des antiviraux utilisés pour traiter les infections virales et les rétrovirus sont des analogues aux nucléosides. Ces analogues ont généralement besoin d'être convertis par trois étapes de phosphorylation en 5'-triphosphate (Schéma I. 17.a). La première étape de phosphorylation, qui offre la 5'-monophosphate (MP), est souvent le goulot d'étranglement dans cette transformation, et ainsi des agents pourraient montrer une faible activité en raison de l'absence de cette transformation. Ce problème peut être évité en utilisant les phosphonates nucléosidiques (Schéma I. 17.b) [42].

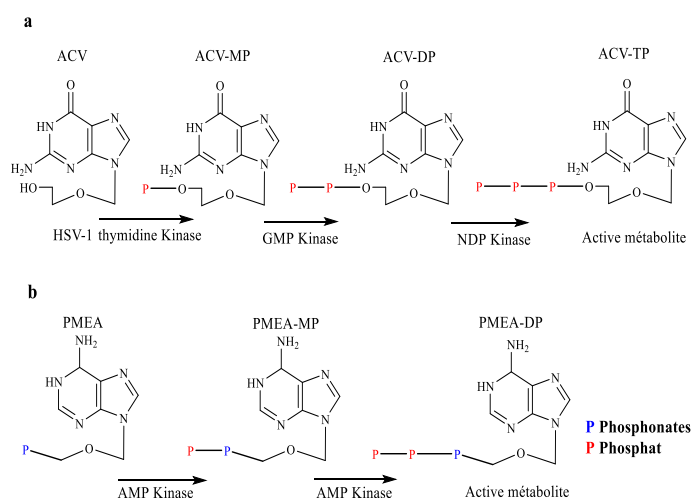


Schéma I. 17 : Métabolisme de nucléosides.

Plusieurs phosphonates nucléosidiques sont maintenant utilisées dans la préparation des médicaments antiviraux (anti HIV, anti HBV, anti HCV et anti HPV) [43], tel que le (S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl) cytosine (HPMPC, cidofovir) présenté dans le marché sous le nom Vistide[®] utilisé pour le traitement du syndrome d'immunodéficience acquise SIDA (Schéma I. 18-a). L'Adefovir dipivoxil qui est indiqué dans le traitement des patients adultes atteints d'hépatite B chronique (Schéma I. 18-b).

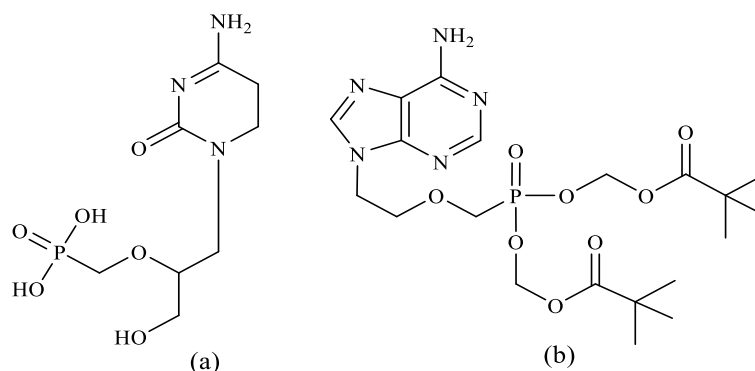


Schéma I. 18 : Nucléosidiques phosphonates.

(a)- (S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl) cytosine (HPMPC, cidofovir).

(b)- bis (pivaloyloxyméthyle) ester du 9-(2-phosphonylméthoxyéthyle) adénine, bis (POM) PMEA ou l'Adefovir dipivoxil.

Anti-inflammatoire

Les composés phosphorés contenant des hétérocycles tel que : les oxaphospholes, l'oxaphosphinine et le vinyloxaphosphinine phosphonate ont été décrits comme des anti-inflammatoires [44, 45]. (Schéma I. 19)

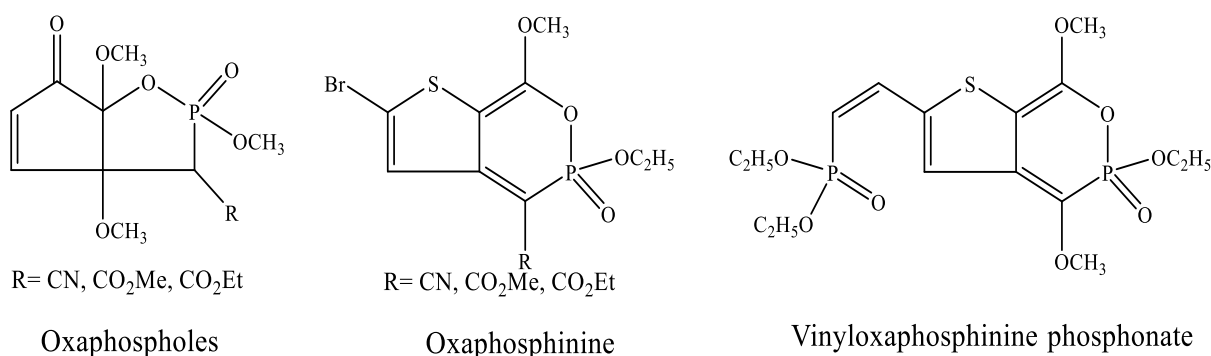


Schéma I. 19: Structures chimiques des anti-inflammatoires contenant des groupements phosphonate.

Substance antibiotique

Un acide phosphorique qui a des propriétés d'un antibiotique a été isolé à partir d'un bouillon de fermentation de la bactérie *Streptomyces fradiae* en 1969. Le composé a été nommé Fosfomycine (Schéma I. 20) et sa découverte a été un événement extrêmement important dans la chimie du phosphore. La Fosfomycine est active contre les bactéries Gram-négatives et Gram-positives [46].

Alaphosphin, (Schéma I. 20) est un antibiotique qui bloque la formation de la paroi bactérienne par inhibition de l'alanine-racémate [47].

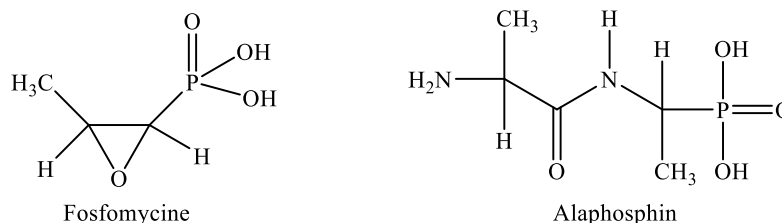


Schéma I. 20 : Exemples de médicaments acides phosphoniques utilisés comme antibiotiques.

Les aminophosphonates et l'activité antioxydant

En effet il a été démontré que quelques composés α -aminophosphonates peuvent être utilisés comme antioxydants, une étude réalisée sur l'activité antioxydante de quelques aminométhane phosphonique démontre que ces composés, à la fois cycliques et acycliques protègent les membranes érythrocytes contre la peroxydation [48]. Nicolae Onita et al ont synthétisé de nouvelles molécules d'aminophosphonates douées de cette activité [49, 50].

I.1.8.2. Dans la corrosion

Les phosphonates sont considérés comme inhibiteurs de corrosion et plusieurs travaux ont été présentés pour impliquer l'importance de ces composés en tant qu'inhibiteurs de corrosion, parmi ceux-ci :

- L'étude de l'activité inhibitrice de l'acide méthylènebis (2-hydroxy-5, 1, 3-phenylène) bisméthylène tétraphosphonique (Schéma I. 21) vis-à-vis de la corrosion de l'acier au carbone en solution 3% NaCl par S. Saker et al en 2015 montre que la molécule étudiée représente un inhibiteur de corrosion efficace [51].

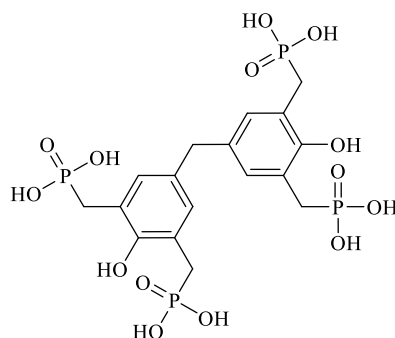


Schéma I. 21 : La structure chimique de l'inhibiteur étudié par Saker et al. [51]

- La synthèse d'une série de cinq dérivés aryles sulfonamidométhylphosphonate par C.B. Verma et al (Schéma I. 22), suivie par une étude de leurs activités inhibitrices de corrosion vis-à-vis de l'acier doux en milieu (HCl ; 1M).

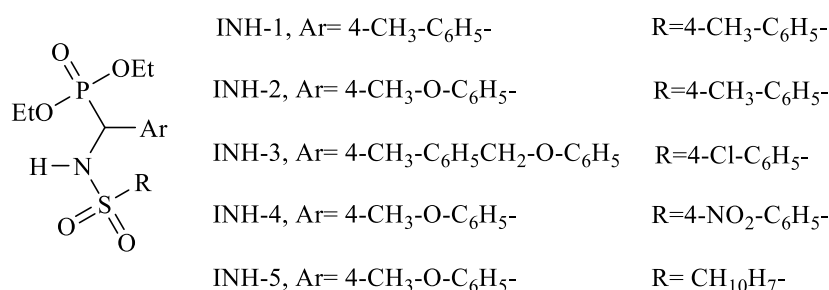


Schéma I. 22 : Les structures chimiques des inhibiteurs étudiés par Verma et al. [52]

Les résultats liés à ces études montrent que ces composés sont des bons inhibiteurs de corrosion et leurs efficacités augmentent avec la concentration [52].

I.1.8.3. Industrie agriculture

De nos jours les aminophosphonates sont utilisés quotidiennement dans plusieurs secteurs d'activités, par exemple, le Buminafos, est utilisé comme régulateur de la croissance des plantes. L'herbicide le plus utilisé au monde, le glyphosate -N (phosphonométhyl) glycine (Round up ©) est aussi un acide aminophosphonique [53].

Les phosphonates possèdent une efficacité fongicide qui a été démontrée dans de nombreux pays (par contre ils n'ont aucun effet fertilisant) mais leurs modes d'actions sont controversées :

- Ils inhibent le développement du champignon dans la plante par une action directe.
- Ils renforcent les défenses naturelles de la plante d'une manière indirecte.

Les sels de diesters d'acide H-phosphonique possèdent les propriétés des plantes préservatives contre la pathogénèse causée par des fongicides [54].

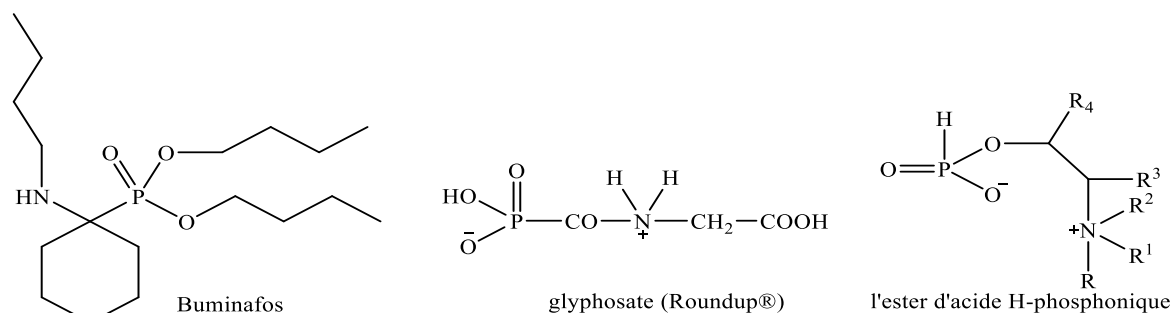


Schéma I. 1 : Structures des composés phosphonates utilisés dans l'agriculture.

I.2.8.4. Dans l'industrie

Les phosphonates sont utilisés aujourd'hui dans tous les domaines de l'industrie, une utilisation industrielle importante de phosphonates est dans le traitement des eaux comme des agents de chélation et de précipitation des métaux surtout les métaux lourds et toxiques, ceci permet d'éliminer ces métaux d'une façon très facile [55].

En fabrication des pâtes et papiers et dans l'industrie textile, ils servent de stabilisateurs de blanchiment au peroxyde, par chélation des métaux qui pourraient inactiver le peroxyde. Dans les détergents, les phosphonates sont fréquemment utilisés parce qu'ils empêchent la précipitation des sels de calcium, stabilisent les agents blanchissants et empêchent l'accumulation de dépôt calcaire [56].

Les phosphonates sont aussi utilisés pour assurer la protection des peintures métalliques des voitures.

Dans l'industrie des catalyseurs les phosphonates sont généralement utilisés dans la préparation des catalyseurs hétérogènes, cocatalyseur dans la préparation du polypropylène isotactique [57].

I.2. Activité antioxydante

La recherche de nouveaux agents antioxydants toujours plus efficace est devenue un axe de recherche mondial comme en témoigne le nombre toujours croissant d'articles dans la littérature à ce sujet. En outre la compréhension des phénomènes impliqués dans le mécanisme d'action de ces molécules est un critère essentiel pour pouvoir imaginer de nouvelles structures encore plus active.

I.2.1. Définition du stress oxydant

Chez les mammifères, la chaîne respiratoire mitochondriale joue un rôle primordial dans la cellule, elle permet notamment la réduction de l'oxygène en molécules d'eau. Cette réaction permet l'apport d'énergie nécessaire au bon fonctionnement de la cellule. Au cours de ce processus une faible quantité d'oxygène est convertie en espèces réactive de l'oxygène (ERO), comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($HO^{\bullet}$) ou le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$). Notre organisme produit donc en permanence ces ERO. Ces espèces ont des rôles physiologiques importants pour la cellule lorsqu'elles sont produites en faible quantité.

Cette production physiologique peut être maîtrisée par des systèmes de défense. Mais si elles sont produites en trop grande quantité comme le cas d'infection, ou en réponse à certains stimuli exogènes ou endogènes, les mécanismes de régulation ne seront plus suffisants. Il y a alors un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants.

Ce déséquilibre représente le **stress oxydant**. Une fois le stress oxydant déclenché, un profil pathophysiologique s'ensuit [58, 59].

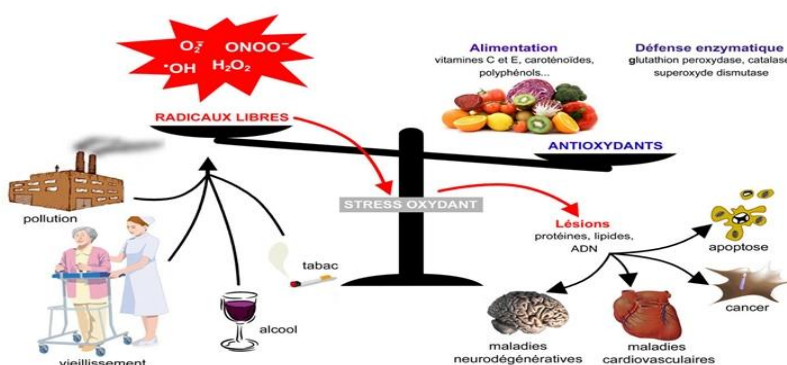


Figure I. 1. Balance radicaux libre /antioxydants

I.2.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes, molécules ou des parties de molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans leur orbite externe tel que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$), et le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$). Du fait de leur instabilité chimique, les radicaux libres ont une tendance à revenir vers un état plus stable en donnant un électron ou en prenant un autre à partir d'une autre molécule. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour des radicaux libres et commencent une chaîne des réactions [60].

Les radicaux libres sont capables d'attaquer les cellules saines du corps, causant leur dysfonctionnement et leur déformation. Ils peuvent semer le désordre dans la structure des protéines cellulaires, des lipides membranaires, des acides nucléiques et ils peuvent éventuellement entraîner la mort cellulaire, en général les radicaux libres ont été impliqués dans la pathogénie de plusieurs maladies, y compris le cancer, le diabète, et l'arthrite [61]. Les radicaux libres peuvent aussi gâter les aliments, flétrir les légumes et les fruits, rancir les graisses [62].

Par ailleurs, il existe d'autres dérivées oxygénées réactives dont leur toxicité est très importante telle que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le peroxy-nitrite ($ONOO^-$), qui ne sont pas des radicaux libres, mais peuvent être des précurseurs des radicaux. De point de vue terminologique, l'ensemble des radicaux libres et des espèces réactives non radicalaires est souvent connue sous le nom des espèces réactives de l'oxygène (ERO) [60].

I.2.2.1. Les sources des radicaux libres

Les radicaux libres ont plusieurs origines :

Les sources exogènes : Les rayonnements χ ou γ , les polluants de l'air (fumée des cigarettes et les contaminants industriels) ainsi qu'une large variété de xénobiotiques (toxines, pesticides, herbicides) et médicaments (antibiotiques et anticancéreux) peuvent contribuer à une production importante des ERO [63].

Les sources endogènes : dans l'organisme les radicaux libres sont produits au cours de nombreuses réactions engagées dans les mécanismes physiologiques, (respiration mitochondriale), dans les mécanismes pathologiques (inflammation, infection) et les allergies [50].

Les ions métalliques : ils ont été démontré que les sels du fer (II) et de cuivre (I) catalysent la transformation de H_2O_2 en $OH^\bullet$. Elle n'étonne pas, donc que la plupart de fer dans le corps est séquestré dans l'hémoglobine ou autres des protéines de transport, et le cuivre est étroitement lié aux acides aminés ou aux petits peptides [64].

I.2.3. Les antioxydants

L'équilibre entre les effets positifs et négatifs des ERO est particulièrement fragile. La production des ERO est strictement régulée par notre organisme qui a développé des moyens de défense pour la protection contre les effets potentiellement destructeurs des ERO et que l'on appelle antioxydants.

I.2.3.1. Les sources d'antioxydants

Dans l'organisme : les antioxydants de notre organisme peuvent se diviser en deux systèmes ; *Enzymatique* (superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPx) et le glutathion réductase (GR)) et *non enzymatiques*, telles que les vitamines C et E, les caroténoïdes et les polyphénols [65]. Tous ces antioxydants travaillent de façon synergique contre les différents types de radicaux libres.

Les antioxydants dans l'alimentation : les fruits et légumes sont des sources des antioxydants naturels. Les petits fruits et certains légumes comme l'oignon, la tomate et les crucifères sont des sources particulièrement riches d'antioxydants qui peuvent contribuer aux systèmes de défense de l'organisme contre l'oxydation [66].

Les antioxydants synthétiques : Parmi les antioxydants de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments: le BHT 321 (3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène), BHA 320 (3-tertiobutyl-4- hydroxyanisole), sont solubles dans les lipides et résistent bien à la chaleur. Ils ont une action synergique. Le TBHQ (tertiobutyl-hydroxyquinone) est moins soluble dans les graisses et le PG (gallate de propyle) à l'avantage d'être relativement soluble dans l'eau, mais l'inconvénient d'être peu soluble dans les lipides, peu résistant à la chaleur et de donner avec le fer des sels de couleur foncée. Le nitrite présente des propriétés anti oxydantes, il peut aussi former des nitrosamines cancérigènes. Les chélateurs de métaux utilisés et plus efficaces sont les polyphosphates et les dérivés d'acide citrique [67].

I.2.3.2. Usage des antioxydants

A l'heure actuelle, les antioxydants sont largement utilisés dans les différents domaines :

Dans l'industrie chimique: Par exemple pour éviter le durcissement du caoutchouc, ou en métallurgie, pour protéger les métaux de l'oxydation.

Dans l'industrie agroalimentaire: Ainsi, les antioxydants présents dans les aliments protègent les molécules organiques, comme les graisses. Parmi les antioxydants utilisés on trouve l'acide L-ascorbique (vitamine C), tocophérols (vitamine E)...

Dans l'industrie teinturerie: Pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture [66].

Application en cosmétique: Les curcuminoïdes et les THC_s (tétrahydrocurcuminoïdes) sont des antioxydants efficaces, en raison des fonctions para-hydroxyle des noyaux benzéniques terminaux. Le pouvoir antioxydant de cette famille de molécules présente un très grand intérêt en cosmétique dans la préparation des crèmes solaires ou "anti-âge". Elles offrent une protection pour la peau contre les rayons UV, elles pourraient aussi agir au niveau de l'oxydation lipidique des différents composés de la crème [68].

I.2.3.3. Mécanismes d'antioxydation

Les antioxydants peuvent être répartis en deux types : les antioxydants préventifs et les antioxydants « chain breaking ».

Les antioxydants secondaires ou préventifs : qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres.

Les antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais, « chain breaking » : qui permettent l'interruption de la chaîne autocatalytique. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes:

- Les donneurs d'hydrogène: C'est le cas le plus fréquent: $AH + R^{\bullet} \rightarrow A^{\bullet} + RH$. La molécule AH est antioxydante si le radical formé $A^{\bullet}$ est plus stable. La stabilité du radical $A^{\bullet}$ peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires: $A^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow A-A$ ou $A^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow A-R$.

Ces antioxydants sont principalement des composés phénoliques mono-, ou polyhydroxylés (tocophérols, tocotriénols, BHT, BHA, flavonoïdes...etc.) [69].

- Les antioxydants « sacrifiés »: concernent des molécules, elles-mêmes radicalaires, qui réagissent avec les radicaux peroxydes ou alcoxydes pour donner des produits non radicalaires interrompant ainsi la propagation de la peroxydation. Deux radicaux sont connus pour se combiner avec les radicaux peroxydes : NO et l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) [70, 71].

I.3. Activité anti-inflammatoire

I.3.1. Inflammation

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vasculaires, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité. L'inflammation est un processus habituellement bénéfique: son but

est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires.

Elle se repose sur tout un réseau de facteurs cellulaires et humoraux, qui ouvrent en coordination immédiatement après l'agression, pour éliminer les stimuli nocifs et les tissus endommagés [72].

I.3.2. Types d'inflammation

L'inflammation peut être de courte durée (inflammation aiguë), ou se pérennise (inflammation chronique) qui nécessite un contrôle médicamenteux.

I.3.2.1. L'inflammation aiguë

Elle est caractérisée par quatre phénomènes typiques qui sont l'œdème, la douleur, la chaleur et la rougeur, elle dure de quelques jours à quelques semaines et peut être ainsi divisée en quatre phases :

Phase vasculaire immédiate (modification de la microcirculation locale)

Phase cellulaire (mobilisation des cellules immunitaires)

Phase de résolution et de **cicatrisation** (restauration des tissus en quelques jours).

I.3.2.2. L'inflammation chronique

Elle se développe si l'agression persiste ou dans les tissus soumis à des réactions auto-immunes, ou l'antigène ne peut être éliminé, elle dure quelque mois ou des années voire même se prolonger le long de la vie de l'individu à la différence de l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais coexistent toute au long de l'évolution de l'inflammation. Le macrophage constitue l'essentiel de l'infiltrat cellulaire vert le site d'inflammation [73].

I.3.3. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui luttent contre les inflammations.

I.3.3.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Depuis l'antiquité les AINS sont utilisées pour abaisser la douleur, la fièvre et l'inflammation. Ils présentent une grande étherogéinité chimique, mais ils sont tous capables d'inhiber de manière non sélective la cyclo-oxygénase (cyclo-oxygène est formé de plusieurs

isocyclo-oxyane) par contre il y a des anti-inflammatoires qui agissent sur cyclo-oxygène précis.

Parmi les effets indésirables d'AINS l'inhibition non sélective de la cyclo-oxygénase dont la régulation de nombreux processus physiologiques tels que la maintenance de l'intégrité de la muqueuse gastrique, la fonction rénale et l'agrégation plaquettaire. Le développement d'inhibiteurs sélectifs de la cyclo-oxygénase 2 COX-2 enzyme induite suite à l'exposition de l'organisme au stimulus inflammatoire s'avère nécessaire [74].

I.3.3.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les AIS ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Comme les glucocorticoïdes endogènes, les AIS se lient à leurs récepteurs au niveau du cytoplasme formant un dimère (récepteur + corticoïde) qui se lie sur les gènes appropriés ce processus conduit à une transcription accrue (élevée) des gènes codants pour les protéines anti-inflammatoires telles que la lipocortine 1 et l'interleukine 10, et une inhibition de l'expression de plusieurs gènes codants pour les protéines proinflammatoires dont les cytokines, les enzymes, les récepteurs et des molécules d'adhésions, parmi les effets adverses (indésirables) des AIS les troubles aigus tels que l'hypertension artérielle, dérégulations de la biosynthèse des glucocorticoïdes à la fin du traitement, insomnie, ulcère gastroduodénal, alors les troubles chroniques sont: ostéoporose, cataracte, prise de poids [73].

I.3.3.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

Les plantes médicinales sont très utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde pour le soulagement des maladies inflammatoires tel que l'arthrite rhumatoïde, l'asthme la bronchite, l'arthrose ...etc.

L'activité anti-inflammatoire de ces plantes revient aux métabolites secondaires doués d'activité biologique telle que les polyphénols, alcaloïdes, saponines et coumarines...etc.

Les substances actives peuvent agir à plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique, les mécanismes de transduction du signal impliqué dans l'activation des cellules inflammatoires, la synthèse des cytokines pro inflammatoires, l'expression des molécules d'adhésion, l'activation du facteur nucléaire Kappa-B et la production des ERO.

I.4. Activité antibactérienne

L'organisme humain, exposé à une multitude de microbes (bactéries, virus, parasites, champignons), possède un système complexe de défense qui lui permet de rencontrer ou d'héberger ces microbes sans leur permettre d'envahir ses tissus. Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entraîner une maladie infectieuse grave.

Les maladies infectieuses causées par les bactéries et les champignons affectent des millions de personnes dans le monde entier; les principales infections bactériennes sont la tuberculose, la pneumonie, l'angine, la bronchite, infections urinaires, les abcès, l'acné...[75].

Les bactéries ne sont pas seulement nuisibles pour l'homme et l'animal, mais d'autres produits, substances ou matériaux peuvent être détruits ou altérés sous l'effet de leur multiplication: détérioration des produits alimentaires; plusieurs monuments d'un grand intérêt historique sont dégradés, les canalisations aussi peuvent être perforées.

Alors, il est devenu indispensable à l'homme de mener une lutte contre l'envahissement des microorganismes, pour conserver ses biens, son potentiel industriel, son patrimoine artistique et pour "protéger son existence" même.

Les moyens de lutte sont nombreux, les agents physiques (température, rayonnements...), les agents chimiques (métaux lourds, chlore et dérivés, alcools...) sont très actifs mais nocifs, aussi bien pour les bactéries que pour les cellules humaines ou animales. Mais il y a d'autres agents, possédant une "toxicité élective": ils s'opposent à la multiplication bactérienne sans nuire aux cellules de l'hôte, et sont utilisés pour cette raison en thérapeutique, ce sont les "**Antibiotiques**" [76].

Ces antibiotiques, qui ont sauvé des vies et soulagé des souffrances de millions de personnes durant des années et jusqu'à ce jour. Cependant, la recherche de nouvelles molécules s'avère nécessaire car, dès le début de l'ère de l'antibiothérapie, ces substances ont montré un certain nombre d'inconvénients et de limites d'utilisation résumées comme suit :

- effets secondaires et toxicité des molécules antimicrobiennes pour l'organisme traité.
- tolérance et résistance croissante des germes infectieux aux antibiotiques.
- difficultés rencontrées dans le traitement des maladies exigeant la destruction des germes pathogènes indépendamment des facultés de défense du malade (patients immunodéprimés) [75].

I.4.1. Les antibiotiques

Le mot antibiotique signifie au sens étymologique: **contre** (anti) les **organismes vivants** (biotiques), le mot biotique signifie ici plus précisément contre les bactéries.

Au cours des années, la définition de ce terme se précisa pour devenir, en 1947, "toute substance chimique, produite par un micro-organisme, ayant la propriété d'inhiber la croissance et même de détruire les bactéries et autres micro-organismes d'une manière spécifique". Avec la venue du génie chimique, la "substance" n'avait plus à provenir d'un organisme vivant pour faire partie de la définition mais pouvait aussi bien être produite totalement ou en partie de façon synthétique [77].

I.4.2. Critères de classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

I.4.2.1. Origine

Elaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi-synthétique). A l'heure actuelle, il s'agira souvent de molécules, le plus souvent obtenues par hémisynthèse.

I.4.2.2. Mode d'action

Paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.

I.4.2.3. Spectre d'activité

Le spectre d'activité d'un antibiotique est la liste des espèces bactériennes sur lesquelles un antibiotique agit. Le spectre est propre à chaque antibiotique, et peut varier dans le temps suite à l'apparition de résistance bactérienne.

I.4.2.4. Nature chimique

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame). La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines...etc.).

I.4.2.5. Modalités d'action

Etudions les interactions dans le temps entre des concentrations variables d'un antibiotique et d'une bactérie.

- **Bactériostatique:** le nombre des bactéries viables après un temps d'incubation et de contact avec un antibiotique est inférieur à celui observé, en l'absence d'antibiotique, pour une culture incubée dans les mêmes conditions. Donc ralentissement ou arrêt de la croissance quantifiable en termes de CMI – (concentration minimale inhibitrice) c'est la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible de la souche bactérienne étudiée, exprime en mg/L.

- **Bactéricide:** le nombre des bactéries tuées après un temps d'incubation et de contact donné avec un antibiotique est inférieur à celui déterminé au temps 0. Donc arrêt de la croissance et mortalité quantifiable en termes de CMB, (concentration minimale bactéricide) plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle l'effet bactéricide souhaité est de 99,99 %. [78].

I.4.3. Mode d'action des antibiotiques

A la différence des antiseptiques, les antibiotiques agissent, au niveau de certaines structures ou dans diverses réactions métaboliques des micro-organismes, à des niveaux précis, dénommés **sites d'action** ou **cibles moléculaires** propres à chacun d'eux [75] et à des concentrations mille à dix mille fois plus faibles que les antiseptiques.

On générale on peut classifier les mécanismes d'action des antibiotiques en quatre catégories selon la molécule et le lieu d'action.

I.4.3.1. Action sur la paroi bactérienne

La paroi est l'enveloppe externe de la cellule bactérienne. Elle joue un rôle essentiel dans la protection des bactéries contre les agents extérieurs et le maintien d'une pression osmotique intracellulaire élevée, ceci grâce à la présence d'une substance complexe appelée « peptidoglycane » [79].

Suivant l'organisation du peptidoglycane dans la paroi, on distingue deux groupes principaux correspondant aux bactéries à gram-positif et à gram-négatif [80]. La paroi des bactéries à Gram positif est composée d'épaisses couches de peptidoglycane, les bactéries à Gram négatif possèdent une couche plus fine de peptidoglycane.

Certaines molécules altèrent la structure des bactéries en inhibant la formation de leur paroi: cas des β -lactames et des glycopeptides, qui bloquent différentes étapes de la voie de synthèse du peptidoglycane.

I.4.3.2. Destruction de la membrane cellulaire

D'autres altèrent la membrane cytoplasmique, provoquant des troubles létaux de perméabilité, exemple: **la polymyxine** [81].

I.4.3.3. Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique

Ce groupe d'antibiotiques inhibe de façon sélective la synthèse des protéines bactériennes ont pour cible le ribosome bactérien, l'organe cellulaire qui est responsable de la synthèse des protéines [82].

I.4.3.4. Action sur la synthèse de l'ADN

La synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) peut aussi être perturbée par les antibiotiques: cas des sulfamides, dutriméthoprine, des quinolones, des rifamycines et des nitroimidazoles [81].

I.4.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques

L'utilisation massive des antibiotiques depuis plus de 60 ans et comme facteurs de croissance dans l'alimentation animale [83] sont les causes principales de l'apparition et de la multiplication de souches bactériennes résistantes, un phénomène initialement décrit par A. *Fleming* et ses collaborateurs dès 1945 [84], c'est-à-dire capables de se multiplier en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe normalement les souches de cette même espèce [85].

Ensuite, chaque fois qu'a été mis au point un nouvel antibiotique, les bactéries s'y sont adaptées plus ou moins vite. La compréhension de ces mécanismes est aujourd'hui une priorité afin d'éviter un basculement vers une situation médicale similaire à celle de la période antérieure à la découverte des antibiotiques.

Références bibliographiques

- [1] P.J. Murphy, *Organophosphorus Reagents: A Practical Approach in Chemistry*, Oxford University Press Inc., Oxford UK, **2004**.
- [2] M. Kaid, *Synthèse d'acides phosphoniques et préparation de catalyseurs : applications à la catalyse et à l'extraction du Zn (II), Cu (II) et La (III)*, thèse de doctorat en catalyse et environnement, université Abou bekr Belkaid- Tlemcen, **2009**.
- [3] R. Engel, Phosphonates as analogues of natural phosphates, *Chem. Rev.* 77 (1977) 349-367.
- [4] R. Hilderbrand, *Role of the phosphonates in living sys*, 1^{ere} edition, **1824**.
- [5] N. Menshutkin, Ueber die Einwirkung des Chloracetyls auf phosphorige Säure, *Ann Chem Pharm.* 133 (1865) 317–320.
- [6] H. Von Baeyer, K.A. Hofmann, Acetodiphosphorige Säure, *Beitr Dtsch Chem Ges.* 30 (1897) 1973–1978.
- [7] A. Michaelis, T. Becker, Über die Constitution der phosphorigen Säure, *Ber.* 30 (1897) 1003–1009.
- [8] A. Michaelis, R. Kaehne, Ueber das Verhalten der Jodalkyle gegen die sogen. Phosphorigsäureester oder O-Phosphine, *Berichte.* 31 (1898) 1048–1055.
- [9] A.E. Arbuzov, Reactions of alkyl halides with phosphites, *J. Russ. Phys. Chem. Soc.* 38 (1906) 687.
- [10] A.N. Pudovik, G.A. Zameteeva, New method for the synthesis for phosphonic and phosphonic esters and their thio analogs communication: addition of O, O-diethyl phosphorothidite to ketones and aldehydes, *Russian chemical bulletin* 1 (1952) 825-830.
- [11] V.S. Abramov, Reaction of dialkyl phosphites with aldehydes and ketones, a new method of preparation of esters of hydroxyalkanephosphonic acids, *Zh Obshch Khim* 22 (1952) 647-652.
- [12] M. I. Kabachnik, T. Y. Medved, Nouvelle méthode de synthèse des acides α -aminophosphiniques, *Dokl Akad Nauk SSSR.* 83 (1952) 689–692.
- [13] E.K. Fields, The Synthesis of Esters of Substituted Amino Phosphonic Acids, *J. Am.Chem. Soc.* 74 (1952) 1528–1531.
- [14] C. Abraham, D. Konstantinos, *Metal phosphonate chemistry: from synthesis to application*, Royal Society of Chemistry, Cambridge UK, **2011**.
- [15] D. Lecercle, *Synthèse et applications de composés gem-biphosphonates, de puissants complexants de métaux*, thèse de doctorat en chimie organique, Université Paris Sud, **2007**.

- [16] S. Guezane Lakoud, Synthèse et activité toxicologique des composés azotés contenant le groupement phosphonate, thèse de doctorat en chimie organique appliquée, Université Badji Mokhtar-Annaba, **2012**.
- [17] Z. Rezaei, S. Khabnadideh, K. Zomorodian, K. Pakshir, S. Nadali, N. Mohtashami, E.F. Mizraei, Design, synthesis, and antifungal activity of new α -aminophosphonates, *International journal of medicinal chemistry* 2011 (2011) 1-11.
- [18] R. Davy, E. Mondjo, Phosphonylation des composés à liaison C=X : accès aux biphosphonates et études de leurs fonctionnalisations, mémoire de master en chimie, Université de Tlemcen, **2012**.
- [19] F. Pertusati, M. Serpi, C. McGuigan, Medicinal chemistry of nucleoside phosphonate prodrugs for antiviral therapy, *Antivir Chem Chemother* 22 (2012) 181-203.
- [20] E. De Clercq, Clinical potential of the acyclic nucleoside phosphonates cidofovir, adefovir, and tenofovir in treatment of DNA virus and retrovirus infections, *Clin. Microbiol Rev* 16 (2003) 569-596.
- [21] R. U. Pokalwar, R. V. Hangarge, M. S. Shingare, Synthesis and antibacterial activities of α -hydroxyphosphonates and α -acetyloxyphosphonates derived from 2-chloroquinoline-3-carbaldehyde, *Arkivok* 11 (2006) 196-204.
- [22] L. Fontaine, D. Derouet, S. Chairatanathavorn, J.C. Brosse, Fixation of chelating molecules on polyphosphonates through chemical modification Part I. Synthesis and characterization, *Reactive Polymers* 19 (1993) 47-54.
- [23] J.C. Brosse, L. Fontaine, D. Derouet, S. Chairatanathavorn, Fixation d'amines pharmacologiquement actives sur les polyphosphonates, 1. Etude sur molécule modèle, *Makromol. Chem* 190 (1989) 2329-2338.
- [24] M. Nandakumar, A.K. Mohanakrishnan, G.G. Rajeshwaran, R. Sureshbabu, Lewis acid-mediate Michaelis-Arbuzov reaction at room temperature: A facile preparation of Arylmethyl/heteoarylmethyl phosphonates, *Org. Lett* 13 (2011) 1270-1273.
- [25] B. Iorga, P. Savignac, *Modern phosphonate chemistry*, London, **1939**.
- [26] A.N. Pudovik, I.V. Konovalova, Addition reactions of esters of phosphorus (III) acids with unsaturated systems, *Synthesis* 79 (1979) 81-96.
- [27] J.L. Montchamp, *Phosphorus chemistry II: synthetic methods*, Springer, Texas USA, **2015**.
- [28] N.S. Zefirov, E.D. Matveeva, Catalytic Kabachnik-Fields reaction: new horizons for old reaction, *Special Issue Reviews and Accounts ARKIVOC* i (2008) 1-17.

- [29] R. Gancarz, Unexpected products in a Kabachnik-Fields synthesis of aminophosphonates, *Phosphorus, Sulfur, Silicon Rel. Elements*, 83 (1993), 59-64.
- [30] R.R. Irani, K. Moedritzer, The direct synthesis of α -aminomethylphosphonic acids, Mannich-Type reaction with Organophosphorus acid, *J Org Chem* 31 (1966) 1603-1607.
- [31] R. Tyka, Novel synthesis of α -aminophosphonic acids, *Tetrahedron Letters* 11 (1970) 677-680.
- [32] D. Redmore, Chemistry of phosphorus acid: new routes to phosphonic acids and phosphate esters, *J. Org. Chem* 43 (1978) 992-996.
- [33] M. Bertrand, Contribution à l'évaluation du risque écotoxicologique et toxicologique des résiduels de production d'eau potable, mémoire de fin d'études formation des ingénieurs du génie sanitaire, École Nationale de la Santé Publique Paris, **2006**.
- [34] P. Kafarski, B. Lejczak, Aminophosphonic acids of potential medical importance, *Curr Med Chem Anticancer Agents* 1 (2001) 301-312.
- [35] R.Y. Chen, L.J. Mao, The synthesis and antitumor activity of novel 1,3,5,2-triazaphosphorines linked with nitrogen mustards, *Heteroatom Chemistry* 5 (1994) 125-129.
- [36] T. A. Bandurina, V. N. Konyuhov, O. A. Ponomareva, A. S. Baribin, E. V. Pushkareva, Synthesis and antitumor activity of aminophosphonic acids, *Pharm. Chem.* 12 (1978) 1428–1431.
- [37] (a) J. B. Camden, Pharmaceutical composition for inhibiting the growth of viruses and cancers, U.S. Pat. 5,665,713 (1997) 1-5.
- (b) J. B. Camden, Pharmaceutical composition for inhibiting the growth of cancers and viruses in mammals, U.S. Pat. 5,656,615 (1997) 1-9.
- (c) J. B. Camden, Pharmaceutical composition for inhibiting the growth of cancers, U.S. Pat. 5,854,231 (1998) 1-10.
- (d) J. B. Camden, Pharmaceutical composition for inhibiting the growth of viruses and cancers, U.S. Pat. 5,902,804 (1999) 1-6.
- (e) J. B. Camden, Pharmaceutical composition for inhibiting the growth of cancers, U.S. Pat. 6,090,796 (2000).
- [38] D. A. Reichenberg, J. Wiesner, C. Weidemeyer, E. Dreiseidler, S. Sanderbrand, B. Altincicek, E. Beck, M. Schlitzer, H. Jomaa, Diaryl ester prodrugs of FR900098 with improved in vivo antimalarial activity, *Bioorg. Med. Chem Lett.* 11 (2001) 833-835.

- [39] M. Neves, L. Gano, N. Pereira, M. C. Costa, M. R. Costa, M. Chandia, M. Rosado, R. Fausto, Synthesis, characterization and biodistribution of bisphosphonates Sm-153 complexes: correlation with molecular modeling interaction studies, *Nucl. Med. Biol.* 29 (2002) 329-338.
- [40] S. P. Luckman, D. E. Hughes, F. P. Coxon, R. Graham, G. Russell, M. J. Rogers, Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras, *J. Bone Miner. Res.* 13 (1998) 581-589.
- [41] E. Van Beek, C. Lowik, G. Van der Pluijm, S. Papapoulos, The role of geranylgeranylation in bone resorption and its suppression by bisphosphonates in fetal bone explants in vitro: A clue to the mechanism of action of nitrogen-containing bisphosphonates, *J. Bone Miner. Res.* 14 (1999) 722-729.
- [42] J. Machado, H. Salomon, M. Olivera, C. Tsoukas, A.A. Krayevsky, M.A. Wainberg, Antiviral activity and resistance profile of phosphazid--a novel prodrug of AZT, *Nucleosides Nucleotides*. 18 (1999) 901-906.
- [43] E. De Clercq, Acyclic nucleoside phosphonates: Past, present and future: Bridging chemistry to HIV, HBV, HCV, HPV, adeno-, herpes-, and poxvirus infections: The phosphonate bridge, *Biochemical Pharmacology* 73 (2007) 911– 922.
- [44] W. M. Abdou, A. A. Kamel, A. A. Shaddy, Use of phosphonyl carbanions in the synthesis of anti-inflammatory active phosphorus-containing fused heterocycles and relevance phosphonates, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 5217-5224.
- [45] S. Kirkiacharian, *Guide de chimie médicinale et médicaments*, édition TEC & DOC, Paris, Lavoisier, **2010**.
- [46] D. Hendlin, E.O. Stapley, M. Jackson, H. Wallick, A.K. Miller, F.J. Wolf, T.W. Miller, L. Chalet, F.M. Kahan, E.L. Foltz, H.B. Woodruff, J.M. Mata, S. Hernandez, S. Mochales, Phosphonomycin, a new antibiotic produced by strains of streptomyces, *Science*. 166 (1969) 122-123.
- [47] F.R. Atherton, M.J. Hall, C.H. Hassall, R.W. Lambert, W.J. Lloyd, P.S. Ringrose. Phosphonopeptides as antibacterial agents: mechanism of action of alaphosphin, *Antimicrob. Agents Chemother.* 15 (1979) 696-705.
- [48] H. Kleszczynska, J. Sarapuk, New aminophosphonates with antioxidative activity, *Cellular & molecular biology letters* 6 (2001) 83 – 91.

- [49] N. Onița, I. Șîșu, M. Penescu, V.L. Purcarea, L. Kurunczi, Synthesis, characterization and biological activity of some α -aminophosphonates, *Farmacia* 58 (2010) 531-545.
- [50] A.B. Krishna, M.V.N. Reddy, G.C.S. Reddy, B.S. Krishna, S.K. Nayak, C.S. Reddy, Synthesis, anti-oxidant and anti-bacterial properties of diethyl (4-flouro-3-nitro phenylamino) (substituted phenyl) methyl phosphonates, *IJABPT* 1 (2010) 873-882.
- [51] S. Saker, N. Aliouane, H. Hammache, S. Chafaa, G. Bouet, Tetraphosphonic acid as eco-friendly corrosion inhibitor on carbon steel in 3 % NaCl aqueous solution, *Ionics* 21 (2015) 2079–2090.
- [52] C.B. Verma, A. Singh, G. Pallikonda, M. Chakravarty, M.A. Quraishi, I. Bahadur, E.E. Ebenso, Aryl sulfonamidomethylphosphonates as new class of green corrosion inhibitors for mild steel in 1 M HCl: Electrochemical, surface and quantum chemical investigation *Journal of Molecular Liquids* 209 (2015) 306–319.
- [53] J. Emsley, D. Hall, *The chemistry of phosphorus*, Harper and Row, Wiley, New York, **1976**.
- [54] K. D. Troev, *Chemistry and Application of H-Phosphonates*, Elsevier Science, **2006**.
- [55] T.P. Knepper, H. Weil, Iodierte Röntgenkontrastmittel im anthropogen beeinflussten Wasserkreislauf, *Vom Wasser* 97 (2001) 103-114.
- [56] Rapport d'HERA, Phosphonates, Human & Environmental Risk Assessment (HERA) on ingredients of European household cleaning products, CAS 6419-19-8; 2809-21-4; 15827-60-8, **2004**.
- [57] Ger. Offen, 2,602,182 (**1977**); C.A., **87**, 136642q (**1977**).
- [58] H. Sies, D.P. Jones, Oxidative stress. In Fink G. *Encyclopaedia of stress*. San Diego: Elsevier, **2007**.
- [59] F. Hauss, Composés hybrides resvératrol/ù-alcanols : Modulateurs de l'activation microgliale et inducteurs de la différenciation cellulaire, Thèse doctorat en chimie Organique, Université Louis Pasteur de Strasbourg, **2006**.
- [60] J. Karlsson, Introduction to Nutraology and Radical Formation. In: *Antioxidants and Exercise*. Illinois: Human Kinetics Press, **1997**.
- [61] M.A.R. Bhuiyan, M.Z. Hoque, Free radical scavenging activities of *Zizyphus mauritiana*, *EJEAFCh* 9 (2010) 199-206.
- [62] Y. Rolland, Actualités des lipides en cosmétique .Antioxydants naturels végétaux. *OCL*. 11(2004) 419 - 424.

- [63] L. Chen, Y.J. Hu, Q.S. Wang, The role of antioxydants in photoprotection: A critical review, *J. Am. Acad. Dermatol* 67 (2012) 1013-1024.
- [64] E. Fontaine, *Radicaux libres. Traité de nutrition artificiel de l'adulte*, Springer-Verlag France (2007) 251-257.
- [65] M. Oroian, I. Escriche, Antioxidants : characterization, natural sources, extraction and analysis, *Food Res Int* 74 (2015) 10-36.
- [66] S. Hercberg, P. Preziosi, S. Briançon, P. Galan, I. Triol, D. Malvy, AM. Roussel, A. Favier, A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU.VI.MAX study-- design, methods, and participant characteristics. *Supplementation en Vitamines et Minéraux AntioXydants*, *Control Clin Trials* 19 (1998) 336-351.
- [67] (a) G. Bartosz, Generation of Reactive Oxygen Species in Biological Systems, *Comments on Toxicology* 9 (2003) 5-21.
- (b) N. Ito, S. Fukushima, A. Hagiwara, M. Shibata, T. Ogiso, Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats, *J. Natl. Cancer Inst.* 70 (1983) 343-352.
- (c) A. Chen, M. Pearson, J. I. Gray, Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chem.*, 43 (1992) 177-183.
- [68] E. Portes, *Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes: Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle*, Thèse de doctorat Spécialité: chimie organique, Université bordeaux, **2008**.
- [69] B. Halliwell, Antioxidant characterization. Methodology and mechanism, *Biochem Pharmacol* 49 (1995) 1341-1348.
- [70] J. Cillard, P. Cillard, Behavior of alpha, gamma, and delta tocopherols with linoleic acid in aqueous media, *J Am Oil Chem Soc* 53 (1982) 19-22.
- [71] F. Marc, L. Deglène-Benbrahim, M. Baccaunaud, *Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments*, Université Bordeaux, **2002**.
- [72] N.T. Ashley, M.Z. Weil, J.R. Nelson, Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation, *Rev. Ecol. Evol. Syst* 43 (2012) 385-406.
- [73] C. Kirassian, *Le cassis et la reine des prés : deux plantes aux propriétés anti-inflammatoires*, thèse de Docteur Vétérinaire, l'université CLAUDE-BERNARD - LYON I (Médecine - Pharmacie), **2015**.

- [74] R.U. Shaikh, M. Pund, R.N. Gacche, Evaluation of anti-inflammatory activity of selected medicinal plants used in indian traditional medication system in vitro as well as in vivo, *Journal of Trad and Comp Med* 6 (2016) 355-361.
- [75] K. Rhayour, Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, Thèse de doctorat National, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, **2002**.
- [76] N. Benzeggouta, Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments, Mémoire de magister en Pharmacochimie, Université Mentouri de Constantine **2005**.
- [77] S. Thiele-Bruhn, Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review, *J. Plant. Nutr. Soil. Sci.* 166 (2003) 145–167.
- [78] D. Yala, A. S. Merad, D. Mohamedi, M.N. Ouar–Korichi, classification et mode d'action des antibiotiques, *Médecine du Maghreb* 91 (2001) 5-12.
- [79] D. Yala, A. S. Merad, D. Mohamedi, M.N. Ouar–Korichi, classification et mode d'action des antibiotiques, *Médecine du Maghreb* 91 (2001) 5-12.
- [80] J.F. Garcia-Bustos, B.T. Chait, A. Tomasz, Structure of the peptide network of pneumococcal peptidoglycan, *J.Biol.Chem.* 262 (1987) 15400-15405.
- [81] H. Leclerc, J-L. Gaillard, M. Simonet, Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien, Doin Editeurs, Paris. **1995**.
- [82] Y. Qin, N. Polacek, O. Vesper, E. Staub, E. Einfeldt, D.N. Wilson, K.H. Nierhaus, The highly conserved LepA is a ribosomal elongation factor that back-translocates the ribosome, *Cell.* 127 (2006) 721–733.
- [83] M. Lipsitch, R.S. Singer, B.R. Levin, Antibiotics in agriculture: When is it time to close the barn door?, *Proc.Natl.Acad. Sci.USA.* 99 (2002) 5752-5754.
- [84] E.F. Gale, E. Cundliffe, P.E. Reynolds, M.H. Richmond, M.J. Waring, The molecular basis of antibiotic action, 2^{ème} edition, **1981**.
- [85] S.B. Levy, Nontransferable resistance in the antibiotic paradox. New-York. **1992**.

Chapitre II
Analyses et méthodes
expérimentales

II.1. Introduction

Ce chapitre est consacré aux différentes méthodes d'analyse physico-chimiques appliquées pour identifier les produits synthétisés ainsi que les réactifs et les méthodes expérimentales utilisées au cours des tests d'applications.

II.2. Méthodes de caractérisations physicochimiques

II.2.1. Méthode de mesure de la température de fusion

Le point de fusion est la température à laquelle un corps passe de l'état solide à l'état liquide. Il s'agit d'une propriété physique caractéristique de la matière qui fournit des informations essentielles sur la composition et la pureté des matériaux [1]. Cette analyse peut s'effectuer par différents appareils de mesure reposant tous sur la restitution d'un gradient de température. Dans le travail au laboratoire on utilise des appareils de mesure de point de fusion automatique, ils sont faciles à manier, fonctionnent plus vite, fournissent des résultats reproductibles et qui ne dépendent pas de l'habileté d'un utilisateur.

La prise du point de fusion des produits obtenus s'est faite par un Fusiomètre BÜCHI Melting point B-540, est un appareil de mesure présentant un gradient de température, varie de 40°C à 500°C. La substance est placée directement dans des tubes capillaires sans avoir besoin d'aucun accessoire, lors du chauffage à partir d'un point donné, un changement de texture apparaît dans l'échantillon.

II.2.2. Analyse élémentaire

L'analyse élémentaire (microanalyse) consiste à déterminer les proportions d'atomes de chaque élément chimique dans la composition d'une substance. Le principe retenu pour doser ces éléments, consiste à trouver la composition du composé organique à partir des gaz formés au cours de sa combustion. L'échantillon est placé dans un four à 1100°C rempli d'oxygène pour une combustion très rapide et complète. Les prises d'essai sont à l'échelle micro-analytique (1 à 3 mg).

Les pourcentages de carbone, d'hydrogène et de l'azote ont été enregistrés à l'aide d'un analyseur Perkin Elmer 2400 CHN. Cette analyse a été effectuée au niveau du laboratoire d'électrochimie des matériaux moléculaires et complexes (LEMMC) de l'université Ferhat Abbas Sétif 1.

II.2.3. Caractérisation spectroscopique

II.2.3.1. Spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie d'absorption ultra-violet visible est à la fois une méthode d'analyse quantitative et qualitative. Elle est essentiellement fondée sur le phénomène d'absorption d'énergie lumineuse par une substance.

L'énergie absorbée dans la région UV de la radiation électromagnétique, produit des variations dans l'énergie électronique de la molécule résultant de transition d'électrons de valence dans celle-ci. Ces transitions consistent en l'excitation d'un électron d'une orbitale moléculaire liante σ , π ou non liante n (niveau d'énergie bas ou état stable), vers l'orbitale antiliante, π^* ou σ^* (niveau d'énergie plus élevée ou état excité) [2]. Les diverses transitions possibles:

❖ *Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$* : cette transition demande beaucoup d'énergie : elle est située dans le lointain UV. C'est pourquoi les hydrocarbures saturés, qui ne présentent que des liaisons de ce type, sont transparents dans la région de l'UV proche.

❖ *Transition $n \rightarrow \sigma^*$* : elle se produit habituellement à des longueurs d'onde voisines de 200 nm et sont observables dans de nombreux composés présentant des hétéroatomes simplement liés, comme O-H, N-H, P-O, ...etc.

❖ *Transition $n \rightarrow \pi^*$* : ce type de transition se rencontre dans le cas des molécules comportant un hétéroatome appartenant à un système insaturé. La plus connue est celle qui correspond à la bande carbonyle.

❖ *Transition $\pi \rightarrow \pi^*$* : les composés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée, conduisent à une forte bande d'absorption vers 170 nm dont la position dépend de la présence des substituants [3].

L'absorption moléculaire dans le spectre ultraviolet et visible dépend de la structure électronique de la molécule.

La région ultraviolet visible des radiations électromagnétique exploitable, est comprise entre 200 et 800 nm. En effet, en dessous de cette valeur, l'opacité de l'air aux courtes longueurs d'ondes impose un appareillage complexe.

La relation entre la concentration d'un composé et son absorbance dans le domaine d'UV-Vis est exprimée par la loi de *Beer Lambert* :

$$A = \epsilon cl = \log I_0/I \quad (\text{II. 1})$$

avec : **A**: absorbance. ϵ : coefficient d'extinction molaire.

c : concentration de la solution en mol/L. **l** : l'épaisseur de la cuve.

I_0, I : intensité de la lumière incidente et transmise.

Les spectres sont toujours tracés pour des solutions diluées et la nature de solvant employé doit être précisée, car elle peut influencer les valeurs de $\lambda_{\max}$ et de $\epsilon_{\max}$ [2].

Les spectres d'absorption UV-Vis des produits synthétisés ont été enregistrés dans la région 200-800 nm avec un spectrophotomètre JASCO V-650 à température ambiante et en milieu DMSO, en utilisant des cellules en quartz de 1 cm de largeur.

II.2.3.2. Spectroscopie FT-IR

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique d'analyse permettant de déterminer la présence ou l'absence des groupements fonctionnels dans des molécules et conduit à la structure partielle ou totale de l'échantillon analysé.

Comme toute méthode spectroscopique, la spectroscopie infrarouge met en jeu des échanges d'énergie entre une molécule et un rayonnement électromagnétique. En spectroscopie infrarouge, on n'observe pas la transition des électrons comme dans le cas de la spectrophotométrie ultraviolet / visible, mais l'énergie associée à la vibration des liaisons chimiques.

En effet, quand on soumet une molécule à une radiation infrarouge, la structure moléculaire se met à vibrer, ceci à pour effet de modifier les distances interatomiques (vibrations de valence ou d'élongation) et les angles de valence (vibrations de déformation).

En spectroscopie infrarouge, on effectue donc un balayage de fréquences (comprises entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1}) ; lorsque la fréquence de la radiation infrarouge est égale à la fréquence de résonance de la liaison, il y a absorption de l'énergie lumineuse et amplification des vibrations. Chaque type de liaison possède une fréquence de vibration qui lui est propre. [2, 4].

Les spectres FT-IR des acides α -aminophosphoniques synthétisés et les produits de départ ont été enregistrés dans la région $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ sur un spectromètre IR JASCO-4200 avec l'attachement de réflectance diffuse (ATR) à une résolution de 4 cm^{-1} . Les transmissions reportées sont exprimées en nombre d'onde (cm^{-1}).

II.2.3.3. Spectroscopie Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique spectroscopique permettant d'identifier la structure des composés organiques et de certains types de matériaux inorganiques.

La spectrométrie de R.M.N. est basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques qui possèdent un moment magnétique nucléaire, c'est-à-dire qu'ils se comportent comme des dipôles magnétiques. Le spectre de RMN résulte de l'absorption sélective d'énergie par des noyaux, placés dans un champ magnétique (intense et constant) et irradiés par une onde électromagnétique. Les noyaux de ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F et ^{31}P sont les plus étudiés. L'absorption de l'énergie par le proton se traduit par un signal de résonance (les déplacements chimiques (δ) s'expriment en ppm (parties par million)) par rapport à une référence interne. L'interprétation des signaux conduit à un ensemble de renseignements sur l'échantillon, d'autant plus facilement interprétables s'il s'agit d'un composé pur [5].

Les spectres de RMN du proton ^1H , du carbone ^{13}C et du phosphore ^{31}P ont été enregistrés sur un appareil Bruker Avance 400 MHz ; On utilise le signal que donnent les protons du tétraméthylsilane (TMS) ou l'acide phosphorique comme références. Tous nos produits synthétisés sont solubilisés dans l'eau deutérée (D_2O) ou dans le DMSO deutéré (DMSO-d_6). La multiplicité des signaux est rapportée à l'aide des abréviations: singlet (s), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q), multiplet (m).

II.3. Méthodes d'évaluation des activités biologiques

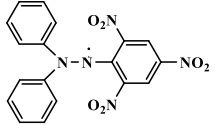
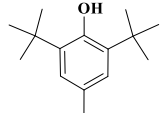
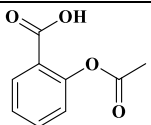
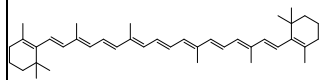
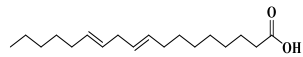
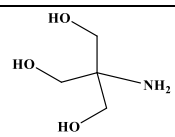
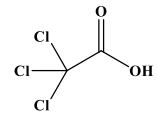
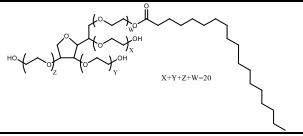
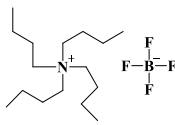
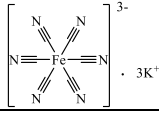
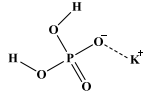
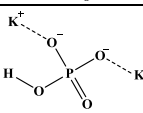
II.3.1. Réactifs et solvants

Pour l'évaluation de l'activité biologique, nous avons utilisé les réactifs et les solvants, regroupés dans le tableau II. 1 et le tableau II. 2.

Tableau II. 1 : *Masses et températures d'ébullition des solvants utilisés.*

Solvants	M (g/mol)	T d'ébullition (°C)
L'eau distillée (H_2O)	18.00	100
Chloroforme (CHCl_3)	119.38	61.2
Diméthylsulfoxyde DMSO ($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$)	78.13	191
Méthanol (CH_3OH)	32.04	64.7
Sérum salé 9%	/	/

Tableau II. 2 : Structures chimiques et propriétés physique des réactifs utilisés.

Réactifs	Formule	M (g/mol)	Structure chimique
2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	394.32	
Hydroxytoluène butylé (BHT)	$C_{15}H_{24}O$	220.35	
L'acide acétylsalicylique (Aspirine)	$C_9H_8O_4$	180.15	
β - carotène	$C_{40}H_{56}$	536.87	
Acide linoléique	$C_{18}H_{32}O_2$	280.44	
Trishydroxyméthylaminométhane (TRIS)	$C_4H_{11}NO_3$	121.14	
Acide trichloracétique (TCA)	$C_2HCl_3O_2$	163.39	
Monopalmitate de polyoxyéthylène sorbitane (Tween 40) E434	$C_{62}H_{122}O_{26}$	1283.63	
Tétrabutylammonium tétrafluoroborate (Bu₄NBF₄)	$C_{16}H_{36}BF_4N$	329.27	
Ferricyanure de potassium	$K_3Fe(CN)_6$	329.24	
Phosphate de potassium monobasique	H_2KPO_4	136,09	
Phosphate de potassium dibasique (Hydrogénophosphate de potassium)	HK_2PO_4	174,18	
Chlorure de fer	$FeCl_3$	162.2	$Fe^{3+} . 3Cl^{-}$

II.3.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Dans la pratique, plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des composés, ces méthodes sont nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres.

Il existe souvent des différences de valeurs entre les méthodes du fait que les sources des radicaux libres soient différentes, et que les antioxydants répondent différemment aux méthodes de mesure, par conséquent, il est difficile de comparer une méthode entièrement à une autre [6]. L'activité antioxydante ne doit pas être conclue sur la base d'une seule méthode de test antioxydant et il est recommandé d'utiliser plusieurs méthodes pour estimer la capacité antioxydante d'une substance [7, 8].

Le choix du test pour la mesure de l'activité antioxydante doit se faire en fonction du composé à tester, des conditions opératoires supportables ou non par ce composé et des équipements du laboratoire... [6].

II.3.2.1. Méthode de DPPH

Le test DPPH est l'une des méthodes les plus courantes et relativement rapides utilisées pour estimer l'activité antioxydante d'un composé ou d'un extrait de plante.

Le DPPH[•] (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable, a une maximale absorption vers $\lambda_{\max} = 517$ nm dans le méthanol et l'éthanol (Figure II.1) avec un coefficient d'extinction molaire $\epsilon_{517 \text{ nm}} = 11240$ l/mol.cm.

Le radical DPPH est de couleur violette sous sa forme oxydée, si on ajoute un antioxydant il devient jaune, sa forme réduite est appelée 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H) [9].

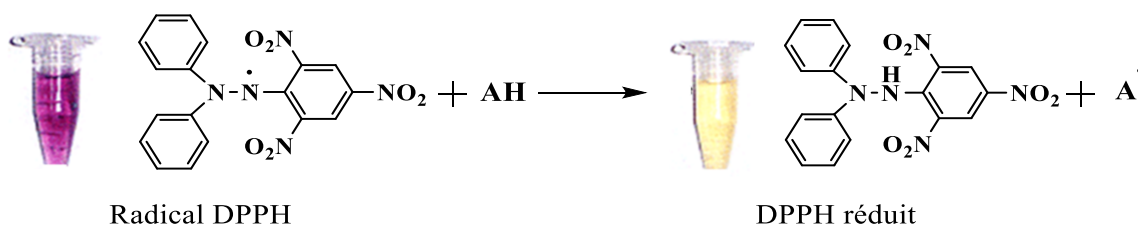


Schéma II. 1 : Réduction du radical DPPH[•] par A-H, où (AH) est un composé capable de céder un H au radical DPPH.

Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée avec une substance qui peut donner un hydrogène, cette réaction donne lieu à la forme réduite avec perte de la couleur violette, la

forme réduite n'absorbe plus à $\lambda = 517 \text{ nm}$, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

La réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le DPPH[•] est suivie par la spectrophotométrie visible en enregistrant la décroissance de la bande d'absorption du DPPH[•] à $\lambda = 517 \text{ nm}$ (diminution de la coloration violette) [10].

Ce test permet de déterminer IC₅₀, concentration en substrat nécessaire pour réduire de 50% la concentration initiale en DPPH[•]. La valeur d'IC₅₀ d'un produit quelconque est généralement comparée à celle des antioxydants standards, composés dont les études *in vitro* et *in vivo* ont montré que ce sont d'excellents antioxydants.

Le problème que pose ce radical est son instabilité à la lumière, son absorbance à $\lambda = 517 \text{ nm}$ décroît sans l'intervention d'un quelconque antioxydant. C'est pourquoi les tests réalisés avec le DPPH[•] doivent impérativement se faire dans l'obscurité [11].

Pour toutes les molécules, nous avons appliqué le même protocole expérimental. Nous avons ajouté 1 mL des acides α -aminophosphoniques (ou standard BHT) dissous dans du diméthylsulfoxyde DMSO à différentes concentrations à 1 mL de la solution méthanolique de DPPH (0.08 mg/mL), le mélange obtenu est laissé dans l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. La diminution de l'absorbance a été mesurée à $\lambda = 517 \text{ nm}$ par rapport aux blancs. L'activité de piégeage des radicaux (APR_{DPPH}) des divers composés testés a été calculée en utilisant l'équation suivante [12]:

$$\text{APR}_{\text{DPPH}} \% = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad (\text{II. 2})$$

où : A_{DPPH} est l'absorbance de contrôle négatif (1 mL de la solution méthanolique de DPPH plus 1 mL de DMSO).

$A_{\text{échantillon}}$ est l'absorbance de l'échantillon.

Le BHT est connu par ses propriétés antioxydantes il est donc utilisé comme contrôle positif. La valeur de l'IC₅₀ exprimée en ($\mu\text{g/mL}$) est calculée et comparée à celle du BHT.

Tous les tests ont été effectués trois fois et les valeurs IC₅₀ ont été rapportées comme moyennes $\pm$ SD (l'écart type (standard deviation en anglais)) des triplicata.

II.3.2.2. Méthode de blanchissement du β - carotène

Pour évaluer l'activité antioxydante de molécules N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP nous avons utilisé le système β -carotène-acide linoléique selon la méthode décrite par

Wanasundara (1994) [13]. Le bêta-carotène est un membre d'une classe des substances appelées les caroténoïdes a un effet antioxydante.

Dans ce test la capacité antioxydante des produits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydatif du β -carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique.

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux libres (hydroperoxydes). Ces radicaux libres oxyde le β -carotène et diminue sa couleur orange; La présence d'un seconde antioxydants permettra de minimiser l'oxydation de la β -carotène par neutralisation des hydroperoxydes formés dans ce système. Ainsi, le taux de dégradation de la β -carotène dépend de l'activité antioxydante [11,14].

Un mélange comprenant 0.5 mg de β -carotène (dissous dans 1 mL de chloroforme), 0.025 mL d'acide linoléique et 200 mg de tween 40 a été préparé. Le chloroforme de la solution a été évaporé dans une rotavapor à 40°C, ensuite 100 mL d'eau distillée saturée d'oxygène est ajoutée avec une agitation vigoureuse jusqu'à obtention d'une émulsion. 2,5 mL de cette émulsion est versé dans des tubes à essais contenant 0.35 mL de chaque produit à tester (2 mg/mL dans l'eau distillée).

Les absorbances ont été lue à $\lambda = 490$ nm, à 0 heure, et après 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 24 h, 48 h d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité.

La même procédure est appliquée avec le standard BHT utilisé comme contrôle positif et avec le contrôle négatif (le méthanol, l'eau distillée).

Le pourcentage de l'activité antioxydante (AA%) a été mesurée en se basant sur la capacité des échantillons d'empêcher le blanchissement du β -carotène et comparer avec ceux de BHT, selon l'équation (II. 3):

$$AA\% = \frac{A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{BHT}}} \times 100 \quad (\text{II. 3})$$

où : $A_{\text{échantillon}}$: Absorbance en présence du produit à tester.

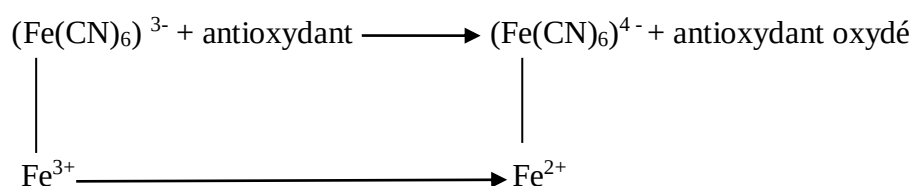
A_{BHT} : Absorbance en présence du contrôle positif BHT.

Tous les tests ont été effectués en triple et les résultats sont exprimés en valeurs moyennes $\pm$ SD.

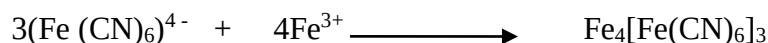
II.3.2.3. Méthode de FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

Le pouvoir réducteur du fer des acides synthétisé est déterminé selon la méthode décrite par OYAIU (1986) [15]. C'est un test direct et rapide qui permet de déterminer l'activité antioxydante des produits étudiés. Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante [16].

La méthode FRAP est un dosage colorimétrique, basée sur la capacité des produits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}).



Le Fe^{2+} peut donc être surveillé en mesurant la formation d'un complexe fortement coloré en bleu vert (bleu de Prusse) à 700 nm [17].



Ferrocyanide de potassium

Ferrocyanide ferrique (bleu)

Dans un premier temps, une solution tampon $\text{H}_2\text{KPO}_4/\text{HK}_2\text{PO}_4$ à 0.2 M à pH = 6.6 est préparée.

Différentes concentrations de N-EDMPA, N-EDMPA ou EDTMP (2,5 mL) sont mélangées avec 2.5 mL de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 mL de ferricyanure de potassium $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (1%). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. Ensuite la réaction est stoppée par l'addition de 2.5 mL de l'acide trichloracétique (TCA) (10%). Les tubes sont centrifugés à 3000 tpm pendant 10 min. Le surnageant (2.5 mL) est mélangée avec 2.5 mL d'eau distillée et 0.5 mL d'une solution aqueuse de chlorure de fer ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (0.1%), ensuite l'absorbance est lue à 700 nm.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, BHT dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Tous les tests ont été effectués en triple et les résultats sont exprimés en valeurs moyennes $\pm$ SD.

Enfin, la concentration des produits testés fournissant 0,5 d'absorption (EC_{50}) a été calculée à partir du graphe d'absorbance par rapport à la concentration des produits.

II.3.2.4. Méthode de la voltammétrie cyclique (VC)

Le superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) est un radical libre formé par la réduction du dioxygène (O_2), et il est présent abondamment dans la nature [18]. L'anion superoxyde est le radical le plus dangereux parmi tous les radicaux oxygènes (ERO) car il a une demi-vie plus longue et peut donc se déplacer sur une longue distance [19], aussi, il est capable de générer d'autres radicaux nuisibles tels que le radical hydroxyle [20]. Certaines méthodes ont été développées pour déterminer spécifiquement le piégeage du superoxyde [21]. La voltamétrie cyclique a récemment servi à déterminer l'activité antioxydante vis-à-vis de ce radical. Cette méthode est basée sur la génération électrochimique de $O_2^{\bullet-}$ par la réduction de O_2 dissous dans des solvants convenables [22, 23].

II.3.2.4.1. Principe de la voltampérométrie cyclique

La voltampérométrie ou la voltamétrie cyclique (VC) est une technique d'électroanalyse basée sur la mesure du flux de courant résultant de la réduction ou de l'oxydation des composés testés présents en solution sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel entre deux électrodes spécifiques. Elle permet d'identifier et de mesurer quantitativement un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques) et également d'étudier les réactions chimiques entre ces composés [24].

La voltamétrie cyclique consiste à faire varier linéairement le potentiel de l'électrode de travail au cours du temps en effectuant des allers-retours entre deux valeurs-limites. Pendant ce balayage, le potentiostat mesure le courant résultant des réactions électrochimiques qui se produisent à la surface de l'électrode de travail. Le potentiel est mesuré entre l'électrode de référence et l'électrode de travail et le courant est mesuré entre l'électrode de travail et la contre-électrode. On obtient alors un voltamogramme cyclique, qui représente la réponse en courant en fonction du potentiel appliqué.

Cette méthode permet de déceler rapidement l'existence de différentes étapes réactionnelles en jouant seulement sur la vitesse de balayage. Ainsi, les caractéristiques des pics et des paliers obtenus, fournissent des informations sur la nature des réactions et sur les mécanismes réactionnels [25].

II.3.2.4.2. Matériels utilisés pour la VC

Les éléments de base d'un analyseur voltamétrique (Figure II. 1), sont:

- ❖ Une cellule électrochimique.

❖ Trois électrodes: E_T : électrode de travail; E_R : électrode de référence et E_{Aux} : électrode auxiliaire (contre électrode).

❖ Un circuit électronique, appelé potentiostat, permettant de modifier le potentiel et d'enregistrer le courant [26].

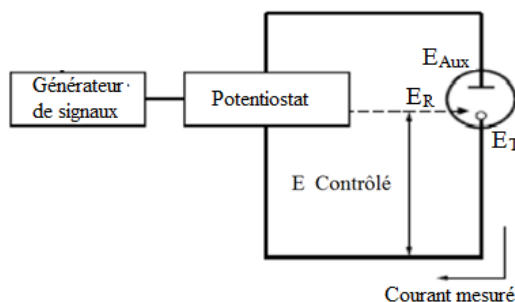


Figure II. 1 : Dispositif expérimental utilisé pour les mesures à potentiel contrôlé.

a) Electrode de travail (électrode indicatrice): Est une microélectrode de petite surface, dont la surface sert de site pour la réaction de transfert d'électrons et est donc le cœur de tous systèmes voltamétrique. Les électrodes de travail les plus utilisées en voltampérométrie sont: Hg, Au, Pt, Ir et CV (carbone vitreux).

La nature de l'électrode de travail est choisie principalement en fonction de son domaine de polarisation, la fenêtre de potentiel dans laquelle l'oxydo-réduction d'un composé est mesurable.

b) L'électrode de référence : Cette électrode possède un potentiel spécifique et constant, ce qui permet d'imposer un potentiel précisément défini à l'électrode de travail. Ceci est important, étant donné que le potentiostat ne permet de contrôler que la différence de potentiel imposé entre deux électrodes. Notons également que de ce fait il est indispensable de mentionner la nature de l'électrode de référence utilisée pour toutes mesures voltamétrique.

Les électrodes de référence les plus utilisées, et leurs potentiels standards par rapport à l'électrode standard à hydrogène ($E=0$ choisi arbitrairement) sont:

- l'électrode au calomel saturée (ECS): $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{KCl sat}$, $E_{\text{ECS}} = 241 \text{ mV}$.
- l'électrode au chlorure d'argent saturée: $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl sat}$, $E_{\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl sat}} = 199 \text{ mV}$.

c) L'électrode auxiliaire: assure le passage du courant dans la solution (la pile) et sa mesure. Elle est usuellement en platine ou en carbone (graphite) et possède une large surface par rapport à l'électrode de travail.

d) l'électrolyte support : Le choix de l'électrolyte support est fondé sur les propriétés suivantes :

- Il doit être assez soluble et dissocié dans les solvants d'étude, pour assurer une bonne conductibilité à une concentration de 50 à 100 fois plus grande que celle de l'espèce électroactive.
- La force ionique demeure constante, et la contribution de l'espèce électroactive du courant de migration est négligeable.
- Il ne doit pas interagir chimiquement avec les composés étudiés ni avec leurs produits de réduction.
- Son domaine d'électroactivité doit être le plus large possible.

e) Solvant : Il ne doit être ni oxydable, ni réductible dans le domaine du potentiel exploré, posséder une bonne stabilité thermique, solubiliser les espèces électroactives et l'électrolyte support, ne doit pas être trop visqueux et volatil pour éviter les variations de concentration pendant les mesures [27].

II.3.2.4.3. Mode opératoire et conditions de travail

L'analyse VC a été réalisée à l'aide d'un Voltalab 40 modèle PGZ301 (Radiometer Analytical) potentiostat / galvanostat piloté par un micro-ordinateur avec le logiciel voltamaster 4. Toutes les expériences ont été réalisées dans une cellule électrochimique à double paroi constituée de trois électrodes immergées dans une solution contenant l'analyte et un excès d'électrolyte support (Bu_4NBF_4). Une plaque de platine ayant une surface de $1,28 \text{ cm}^2$ a été utilisée comme contre-électrode, une électrode au calomel saturée (ECS) a été utilisée comme électrode de référence et une électrode de carbone vitreux ($\varnothing = 3,0 \text{ mm}$) comme électrode de travail (Figure II. 2); la surface de l'électrode de travail a été polie avant chaque mesure avec un papier au carbure de silicium 4000, puis rincée avec de l'eau distillée et avec le solvant utilisé dans le VC, le DMSO dans notre cas.

a) Voltamétrie cyclique de l'oxygène

Dans une cellule électrochimique, nous mettons 20 mL de solution contenant l'électrolyte support Bu_4NBF_4 (0.1 M) dissous dans le DMSO; cette solution était saturée d'air sec. La solubilité de l'oxygène dans le DMSO était de 2.1 mM [28]. Le voltamogramme de l'oxygène est enregistré à une vitesse de balayage de 20 mV/s, la gamme de potentiel était de -1.01 à -0.3 V / ECS et à température ambiante.

b) Voltamétrie cyclique de l'oxygène en présence des composés testés

La mesure de l'activité de piégeage des radicaux superoxydes est basée sur la méthode de Le Bourvellec et al [29] avec une légère modification dans les conditions expérimentales. L'effet de divers composés a été vérifié par l'addition de 0.1 mL successifs de solution initiale à 20 mL de solution électrolyte contenant l'oxygène, le voltamogramme a été enregistré dans les mêmes conditions expérimentales que celles précédemment.

Le pourcentage d'activité de piégeage des radicaux vis à vis les superoxydes ($\text{APR}_{\text{O}_2^\bullet-\%}$) des composés tester a été calculé en utilisant l'équation suivante:

$$\text{APR}_{\text{O}_2^\bullet-\%} = \frac{I_{\text{pa}}^0 - I_{\text{pa}}}{I_{\text{pa}}^0} \times 100 \quad (\text{II. 4})$$

Où I_{pa} et I_{pa}^0 présentent le courant de pic anodique de l'oxydation $\text{O}_2^\bullet-$ en présence et en absence du composé testé.

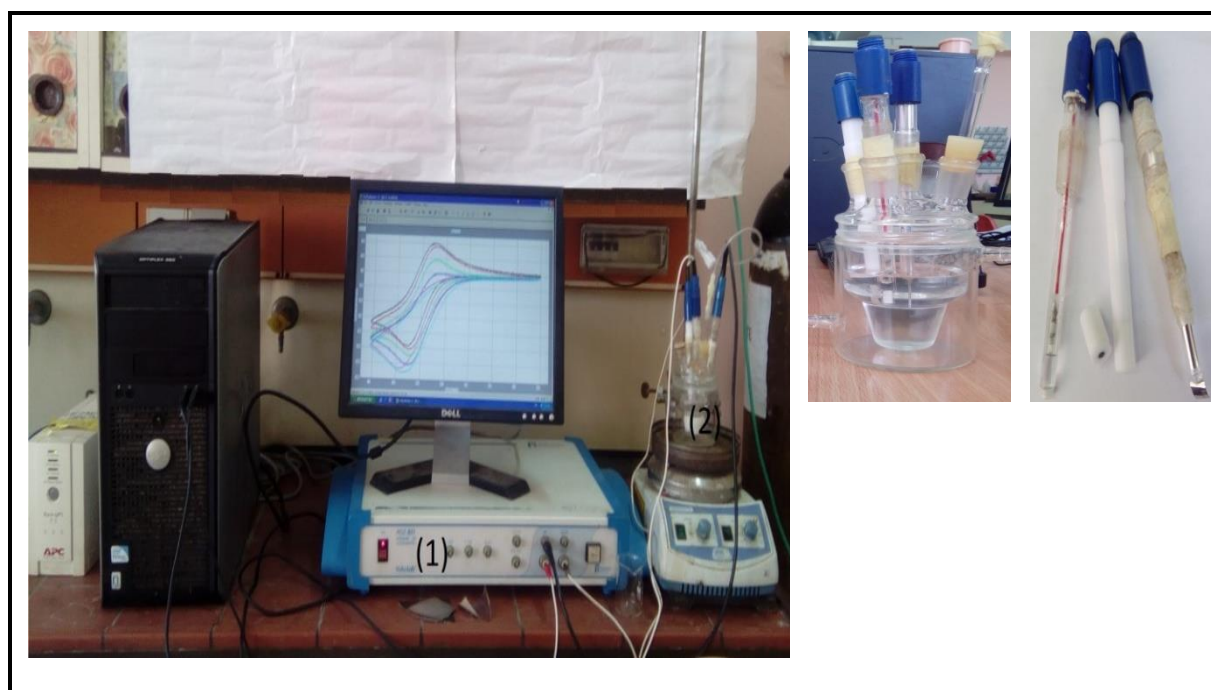


Figure II. 2: Montage expérimental utilisé pour les mesures voltamétriques.

II.3.3. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* (Inhibition de la dénaturation des protéines).

L'activité anti-inflammatoire des acides α -aminophosphoniques synthétisés a été étudiée en utilisant la technique d'inhibition de la dénaturation de l'albumine selon les méthodes de Mizushima et Kobayashi [30] et Sakat et al. [31], avec une légère modification.

II.3.3.1. Préparation de la solution protéine

On met 1 mL d'albumine d'œuf (à partir d'œuf de poule frais) dans 199 mL de solution de Trishydroxyméthylaminométhane (TRIS) 20 mM (pH de solution TRIS a été ajusté avec une petite quantité de HCl 37% à pH 6.8) sous agitation douce.

II.3.3.2. Préparation de l'échantillon

Dans des tubes à essai contenant 100 µL de solution aqueuse de concentrations variables des acides testés on ajoute 2 mL de solution d'albumine préparé. Le témoin sans produit est préparé avec 2 mL de solution d'albumine et 100 µL d'eau distillée. L'acide acétylsalicylique (Aspirine) connu pour ses propriétés anti-inflammatoire est utilisé comme standard. Les tubes continus d'échantillon a testés, le standard et le témoin ont été incubés dans un bain marie à 60 °C pendant 20 minutes, après refroidissements la turbidité mesurée par spectrophotométrie à 650 nm. Le test est également été répété à des températures 65 et 72° C.

La dénaturation des protéines inhibées par les acides synthétisés ont été exprimées en pourcentage en utilisant la formule (II. 5):

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{T_{\text{test}} - T_{\text{contrôle}}}{T_{\text{test}}} \times 100 \quad (\text{II. 5})$$

avec $T_{\text{contrôle}}$ = la transmittance de controle.

T_{test} = la transmittance de l'échantillon testé.

II.3.4. Méthode utilisée pour l'évaluation des propriétés antibactériennes

L'évaluation des propriétés antibactériennes est étudiée par la technique de diffusion en milieu solide par la méthode de disque, selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2012).

II.3.4.1. Méthodes d'étude sur milieu solide

C'est une méthode de mesure qualitative permettant de tester l'existence du pouvoir antimicrobien. C'est l'équivalent d'un antibiogramme où les disques d'antibiotiques sont remplacés par d'autre imprégnés de produit a testé.

Il s'agit d'une méthode réalisée en milieu gélosé d'agar dans des boîtes de pétri. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque produit diffuse à partir du disque au sein de la

gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition.

Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, elle s'applique à un très grand nombre d'espèces bactériennes [32, 33, 34].

II.3.4.2. Micro-organismes étudiés

Les quatre souches bactériennes choisies au cours de cette étude ont été fournies par l'ATCC (American Type Culture Collection). Ces souches sont à l'origine de plusieurs infections (urinaire, intestinale, respiratoire, etc.) (Tableau II. 3).

Tableau II. 3: Caractéristiques des souches bactériennes utilisées [35].

Bactéries	Souches	Références	Pouvoir pathogène
Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	ATCC-10239	Infections des tissus profonds, diarrhée...etc.
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC-2758	Sont souvent à l'origine d'infections nosocomiales.
Gram positif	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC-10110	Infections oculaires, toxi-infection alimentaire...etc.
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC-11949	Causer des infections cutanées légères, telles que des furoncles ou des anthrax, ou des infections plus graves, comme des pneumonies ou des bactériémies.

Ces souches provenant du laboratoire de recherche de microbiologie de l'Université de Ferhat Abbas Sétif.

A partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 heures sur milieu gélose nutritive, une suspension bactérienne a été préparée par le prélèvement de 2 à 3 colonies bactériennes à l'aide d'une pipette pasteur. Ces colonies ont été mises dans un tube d'eau physiologique

stérile (0.9% NaCl) de façon à obtenir un inoculum de densité optique de 0.08 à 0.1, lue à 625 nm.

II.3.4.3. Ensemencement

Le milieu retenu pour la majorité des espèces bactériennes est celui de Muller-Hinton (MH). Ce milieu permet la croissance de nombreuses bactéries et ne contient pas d'inhibiteurs des antibiotiques.

Le milieu HM a été coulé dans des boîtes de pétrie et laissé solidifier. Ensuite, un écouvillon stérile a été plongé dans la suspension bactérienne puis légèrement essoré.

L'écouvillon passer 2 à 3 fois sur toute la surface en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne répartition de l'inoculum. Laisser sécher les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques.

II.3.4.4. Dépôt des disques

Pour chaque souche testée, des disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre stériles ont été déposés sur la surface de la boîte de pétri contenant des géloses ensemencées puis imprégnés de 10 µL de chaque produit à différentes concentrations. D'autre disque chargé de 10 µL de DMSO ont été déposés pour servir des témoins négatifs. Un disque de l'antibiotique gentamicine est utilisé comme contrôle positif.

II.3.4.5. Incubation et lecture

Après l'incubation des boîtes à l'étuve à 37°C durant 24 heures, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en millimètre à l'aide d'une règle pour chaque produit testé.

Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible au produit testé, par contre, plus il est petit, plus la bactérie est résistante.

II.3.5. Essai de l'activité hémolytique *in-vitro* des acides α -aminophosphoniques synthétisés

Pour évaluer l'activité hémolytique *in-vitro* des produits synthétisés nous avons utilisé le test d'hémolyse sur des érythrocytes (globules rouges) humains (groupes sanguins O) selon le protocole expérimental rencontré dans les travaux de Malagoli (2007) [36].

II.3.5.1. Préparation de la suspension de globules rouges

Le sang humain frais a été recueilli dans un tube héparine à partir d'un volontaire en bonne santé et transféré dans les tubes centrifugés.

Les tubes ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant dix minutes, le plasma (surnageant) est éliminé et le culot a été lavé trois fois avec un volume égal de sérum salé. Le volume 1 mL de culot obtenu est solubilisé dans 99 mL du sérum salé.

II.3.5.2. Préparation des échantillons des molécules synthétisées

Des différentes concentrations des composés synthétisés sont préparées dans le sérum salé.

Le mélange réactionnel (1200 µL) consistait de 600 µL de solution d'échantillons à différentes concentrations et 600 µL de suspension de globules rouges, au lieu de l'échantillon à tester 600 µL d'eau distillé a été ajoutée à un tube qui contient 600 µL de la suspension (tube totalement hémolysé). Tous les tubes ont été incubés 37 ° C pendant 30 min.

A la fin de l'incubation, les tubes ont été centrifugés à 2500 tr / min pendant 5 min et l'absorbance des surnageants a été utilisé pour mesurer l'absorbance de l'hémoglobine libérée à 540 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible double faisceau contre un blanc contenant le sérum.

D'autre tube teste blanc est préparé dans les mêmes conditions expérimentales qui contient 600 µL des produits de différent concentration et 600 µL de sérum salé.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ hémolysé} = \frac{A_t}{A_{cp}} \times 100 \quad (\text{II. 6})$$

où A_t et A_{cp} sont les absorbances de l'échantillon et du contrôle positif, respectivement.

II.4. Méthode utilisée pour les tests de corrosion

Les aciers au carbone sont des matériaux qui sont beaucoup utilisés dans l'industrie en raison de leur coût peu élevé et de leurs propriétés mécaniques intéressantes. Leurs applications s'étendent du bâtiment aux boîtes de conserves alimentaires, en passant par les composés électroniques ou les coques de certains bateaux. Comme tous les matériaux, l'acier peut être affecté par le phénomène de corrosion dont la vitesse peut augmenter selon les sites d'exposition.

Dans ce contexte l'étude de l'inhibition de la corrosion de ces matériaux, est un domaine de recherche très attirant en raison de la large utilisation des solutions acides dans l'industrie, notamment dans les bains de décapage des métaux et pour le nettoyage des installations industrielles [37, 38].

Plusieurs moyens de protection sont applicables selon le milieu agressif dont l'objectif est de ralentir la vitesse de corrosion. Parmi ces moyens, on peut citer l'ajout en très faibles quantités dans le milieu corrosif de quelques composés chimiques appelés inhibiteurs de corrosion. Ces derniers sont souvent des substances minérales telles que les chromates, les molybdates, les phosphates, les silicates [39, 40] et des substances organiques contenant des liaisons insaturées et / ou des hétéroatomes comme O, N, et S [41, 42].

Plusieurs travaux ont été réalisés dans notre laboratoire sur le pouvoir inhibiteur de la corrosion de l'acier en milieux acides par les composés phosphonates [43, 44]. La plupart des composés étudiés ont manifestés une excellente efficacité inhibitrice vis-à-vis de la corrosion de l'acier dans les milieux considérés.

Pour l'application des acides α -aminophosphoniques que nous avons synthétisés comme inhibiteurs de corrosion de l'acier au carbone XC48 en milieu acide sulfurique (H_2SO_4 ; 0.5 M), nous avons fait appel aux mesures gravimétriques. On présentera notamment l'influence de la concentration et de la structure de l'inhibiteur sur le comportement de l'acier en milieu acide sulfurique.

II.4.1. Gravimétrie

Les mesures de pertes de masse sont la première approche de l'étude de l'inhibition de la corrosion d'un métal dans une solution électrolytique. C'est la méthode la plus simple pratiquement elle ne nécessite pas un appareillage important, mais ne permet pas l'approche des mécanismes mis en jeu lors de la corrosion. Son principe repose sur la détermination de la perte de masse (**m**) subie par un échantillon de surface (**S**), pendant le temps (**t**) d'immersion dans une solution corrosive maintenue à température constante.

Cette technique a été utilisée pour déterminer la vitesse de corrosion, le taux de recouvrement et l'efficacité inhibitrice de corrosion [45].

La vitesse de corrosion est déterminée après 24 h d'immersion à température égale à 25°C. Elle est calculée par la formule suivante :

$$A_{corr} = \frac{\Delta m}{S \times t} = \frac{m_1 - m_2}{S \times t} \quad (\text{II. 7})$$

Ou : Δm : La perte de masse de l'acier en g.

m_1 et m_2 : La masse de l'échantillon avant et après 24h d'immersion dans le milieu corrosif en g.

t : temps d'immersion ; S : surface de la pièce métallique en cm^2 .

L'efficacité inhibitrice ($\eta\%$) d'un composé est calculée à partir de la relation suivante :

$$\eta(\%) = \frac{A_{corr}^0 - A_{corr}}{A_{corr}^0} \times 100 \quad (\text{II. 8})$$

A_{corr}^0 et A_{corr} représentent respectivement les valeurs de la vitesse de corrosion en absence et en présence de l'inhibiteur en (g/h.cm^2) .

Le taux de recouvrement (θ) est donné par la relation suivante :

$$\theta = \frac{A_{corr}^0 - A_{corr}}{A_{corr}^0} \quad (\text{II. 9})$$

II.4.2. Dispositif et protocole expérimental

II.4.2.1. Spécimen

Le spécimen testé dans cette étude est l'acier au carbone XC48 (désigné anciennement par la norme française AFNOR XC48). Les lettres XC signifient qu'il s'agit d'un acier non allié de nature fine dont les fourchettes d'analyse sont relativement étroites.

L'acier XC48 utilisé a été fourni par le complexe ARCELOR METTAL – EL HADJAR d'Annaba sous forme d'une tige cylindrique dont la composition chimique est donnée dans le tableau II. 4.

Tableau II. 4: Composition chimique de l'acier au carbone XC48 en % massique.

<i>Elément</i>	<i>C</i>	<i>Mn</i>	<i>Si</i>	<i>Mo</i>	<i>P</i>	<i>S</i>	<i>Ni</i>	<i>Fe</i>	<i>F</i>
% Massique	0.418	0.730	0.245	0.012	0.016	0.019	0.079	98.099	0.777

II.4.2.2. Préparation des spécimens pour l'analyse gravimétrique

Les spécimens (échantillons) utilisés dans les mesures gravimétriques sont coupés sous forme de pièces cylindriques de diamètre de 2 cm et d'épaisseur de 0,6 cm, avec une surface extérieur, $S = 10,05 \text{ cm}^2$, figure II. 3.



Tige d'acier au carbone XC48

Les spécimens d'acier au carbone XC48

Figure II. 3 : Pièces d'acier au carbone utilisées au cours des essais gravimétriques.

Le comportement d'un matériau vis-à-vis de la corrosion dépend fortement de sa composition et des propriétés de sa surface exposée au milieu corrosif. Pour obtenir des résultats fiables et reproductibles, on a procédé au traitement de la surface des échantillons en contact avec le milieu corrosif comme suit:

- ❖ Polissage mécanique au papier abrasif (SiC) à granulométrie décroissant P60, P400, P1200 et, P2000 sous refroidissement avec l'eau. C'est une opération qui consiste à rendre une surface lisse, ayant un aspect d'un miroir. En supprimant les fissures, les aspérités et toutes les impuretés (résultant de la corrosion).

- ❖ Rinçage à l'eau distillée puis avec l'acétone pour nettoyer la surface après l'abrasion mécanique.

- ❖ Séchage à l'aide d'un papier absorbant à fin d'éviter l'influence immédiate de la corrosion, figure II. 4.

Toutes ces étapes sont réalisées avant chaque essai gravimétrique

**Figure II. 4:** Echantillons étudiés avant et après polissage par un appareil polisseur.

II.4.2.3. Préparation des solutions électrolytiques

Les milieux électrolytiques sont classés sous deux types, soit des solutions en absence d'inhibiteurs (blancs) ou en présence d'inhibiteurs.

Le milieu corrosif choisi dans cette étude, est une solution d'acide sulfurique H_2SO_4 de concentration 0,5 M, préparée par dilution de la solution concentrée de H_2SO_4 98% (Sigma-Aldrich®) avec de l'eau distillée.

Préparation des solutions des inhibiteurs testés : tout d'abord on a préparé une solution mère de concentration $C = 10^{-2}$ M et de volume $V = 25$ mL de chaque inhibiteur par dissolution d'une masse adéquate de chaque inhibiteur dans H_2SO_4 (0.5 M), ensuite on a préparé cinq solutions de volume 50 mL à différentes concentrations (10^{-3} M, $5 \cdot 10^{-4}$ M, 10^{-4} M, $5 \cdot 10^{-5}$ M et 10^{-5} M) par dilution de la solution mère de l'inhibiteur avec H_2SO_4 (0.5 M).

II.4.2.4. Mode opératoire

Après polissage, les pièces métalliques préparées pour les essais gravimétriques ont été pesées en premier temps à l'aide d'une balance analytique de haute précision. Ensuite, les pièces sont immergées pendant 24 heures dans des béchers contenant 25 mL d' H_2SO_4 0.5M en absence et en présence de différentes concentrations des composés étudiés à température 298 °K. La régulation de la température de l'électrolyte a été contrôlée automatiquement à l'aide d'un bain Marie. Après 24 heures d'immersion, les pièces sont retirées de la solution électrolytique et lavées à l'eau distillée et à l'acétone, puis séchées à l'aide d'un papier absorbant. Après séchage les pièces sont pesées une deuxième fois. Ce protocole est appliqué pour chaque test effectué.

II.5. Calculs théoriques

L'étude théorique, notamment les calculs de la chimie quantique et les simulations de dynamique moléculaire, a été réalisée pour déterminer d'une part la corrélation entre l'efficacité inhibitrice de corrosion et la structure moléculaire des molécules synthétisées par le calcul des indices chimiques quantiques et d'autre part pour illustrer et interpréter à l'échelle moléculaire le mode et les configurations d'adsorption des molécules sur la surface métallique ainsi que la détermination de la valeur de l'énergie d'adsorption par les simulations de dynamique moléculaire MDS.

II.5.1. Calculs de chimie quantique

Les méthodes de chimie quantique permettent le calcul de la structure électronique des systèmes particules tels que les atomes, les molécules neutres, les espèces radicalaires, les ions et les surfaces solides...etc. Des algorithmes de calculs très précis sont utilisés pour minimiser l'énergie totale en fonction des paramètres structuraux et pour prédire la structure

la plus stable des composés étudiés. Les fonctions ainsi obtenues permettent de calculer des propriétés électriques et magnétiques, de même qu'elles conduisent à l'obtention d'indices de réactivité et d'autres caractéristiques. Ces méthodes permettent donc aussi bien l'interprétation de résultats expérimentaux, que la prédiction de propriétés des composés pour lesquelles aucune expérience n'a pu encore fournir d'informations.

Ainsi, les théoriciens chimistes appliquent aujourd'hui les méthodes de chimie théorique pour savoir comment réaliser de meilleurs médicaments, de meilleures séparations chimiques, de meilleures piles à combustible et comment trouver de meilleurs catalyseurs...etc. Un des meilleurs exemples que l'on peut citer dans ce contexte est la théorie de la fonctionnelle de la densité DFT (de l'anglais : *Density Functional Theory*) [46].

II.5.1.1. Théorie de la fonctionnelle de la densité "DFT"

Depuis l'avènement de la mécanique quantique, la description d'un système de particules en interactions (ou problème à N corps) a fait l'objet d'incessantes recherches, qui sont d'une importance extrême lorsque l'on veut décrire le plus fidèlement la structure électronique d'un solide. Le problème à N corps n'admettant pas de solution analytique, plusieurs méthodes ont été proposées afin de résoudre l'équation de Schrödinger [46].

Les méthodes traditionnelles dans les théories de la structure électronique de la matière, en particulier la théorie Hartree - Fock et les méthodes dérivées de ce formalisme, se fondent sur une fonction d'onde multiélectronique. L'objectif principal de la DFT est de remplacer la fonction d'onde multiélectronique par la densité électronique en tant que quantité de base pour les calculs. Alors que la fonction d'onde multi électronique dépende de $3N$ variables (où N est le nombre total de particules du système), la densité est seulement fonction de trois variables, il s'agit donc d'une quantité plus facile à traiter [47]. L'idée centrale de la DFT est que la seule densité électronique de l'état fondamental du système, détermine entièrement les valeurs moyennes des paramètres observables comme par exemple l'énergie [48].

Les premières bases de la DFT ont été données en 1964 par Hohenberg et Kohn [49], qui ont démontré la possibilité de calculer les propriétés d'un système à l'aide de la densité électronique. Ensuite, Kohn et Sham [50] ont rendu possible les applications de la DFT en chimie quantique. De nos jours, la DFT est la méthode de calcul de propriétés chimiques la plus utilisée en chimie théorique. Elle présente l'avantage d'être simple à mettre en œuvre, d'être prédictive sur l'ensemble des matériaux et enfin d'être utilisable sur des systèmes de

très grandes tailles. Cette utilisation intensive de la DFT est allée de pair ces dernières années avec la construction de machines [51].

Les optimisations géométriques des composés synthétisés ont été réalisées en utilisant le programme Gaussien [52], basé sur la théorie fonctionnelle densité (DFT), en utilisant les fonctions d'échange hybride à trois paramètres de Becke avec les fonctionnelles de corrélation Lee-Yang-Parr (B3LYP) 31G (d, p) [53, 54].

Les paramètres chimiques quantiques des composés étudiés tels que: gap énergétique ΔE_{GAP} , énergie d'ionisation, affinité électronique, électronégativité, potentiel chimique électronique, dureté moléculaire, douceur moléculaire et indice d'électrophilie qui peuvent être calculés en utilisant les équations suivantes [43]:

$$\text{Energy gap: } \Delta E_{GAP} = E_{HOMO} - E_{LUMO} \quad (\text{II. 10})$$

$$\text{Energie d'ionisation: } I = -E_{HOMO} \quad (\text{II. 11})$$

$$\text{Affinité électronique: } A = -E_{LUMO} \quad (\text{II. 12})$$

$$\text{Electronégativité: } \chi = (I + A)/2 \quad (\text{II. 13})$$

$$\text{Potentiel chimique: } \mu = -\chi \quad (\text{II. 14})$$

$$\text{Dureté moléculaire: } \eta = (E_{LUMO} - E_{HOMO})/2 \quad (\text{II. 15})$$

$$\text{Douceur moléculaire: } S = 1/\eta \quad (\text{II. 16})$$

$$\text{Indice d'électrophilie: } \omega = \mu^2/2\eta \quad (\text{II. 17})$$

Ces paramètres sont très importants pour comprendre les activités chimiques et biologiques des composés synthétisés. Il a été démontré ces dernières années, que les calculs quantiques-chimiques peuvent être un outil précieux pour étudier les relations structure-activité de divers composés.

II.5.2. Simulation de la dynamique moléculaire

L'étude et la compréhension des interactions entre les molécules inhibitrices et la surface de l'acier au carbone ont été effectuées par les simulations de dynamique moléculaire (MDS). Les MDS sont largement utilisés pour déterminer d'une part les différentes configurations d'adsorption et d'autre part le système d'interaction entre les molécules inhibitrices et la surface de l'acier.

Nous avons utilisé le logiciel Materials Studio 7.0 pour effectuer les simulations de la dynamique moléculaire (SDM). Dans cette étude, nous sélectionnerons la surface de Fe (110) pour les simulations des modes d'adsorption des composés étudiés sur l'interface Fe. Aaa

Pour calculer l'énergie d'interaction ($E_{\text{interaction}}$) entre les molécules d'inhibiteurs et l'interface Fe (100) nous avons utilisée l'équation suivante :

$$E_{\text{interaction}} = E_{\text{total}} - (E_{\text{Fe}} + E_{\text{inh}}) \quad (\text{II. 18})$$

E_{total} : Est l'énergie totale du système de simulation.

E_{Fe} : Est l'énergie de la surface de Fe.

E_{inh} : Est l'énergie de la molécule inhibitrice seule.

Références bibliographiques

- [1] L. Gattermann, H.E.I Nrichwieland, W. McCartney, Laboratory methods of organic chemistry, University of Edinbur, New York, the macmillan company, 1937.
- [2] M. Chavanne, A. Jullien, E. Flamand, Chimie organique expérimentale. Beaudoi, 2^{ème} edit, 1998.
- [3] R.M. Silverstein, G.C. Basler, T.C. Morill, Identification spectrométrique de composés organique, Paris Bruxelles, 1998.
- [4] H.H. Willard, L.L. Merritt Jr., J.A. Dean, F.A. Settle Jr., Instrumental Methods of Analysis. Wadworth Publishing Co., New York, 1981.
- [5] J. M^c Murry, Chimie organique, Les grands principes, Paris, 2000.
- [6] M. Françoise, D. Andre, D.B. Laurence, F. Carine, B. Michel, F. Pierre, Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments, Medecine Sciences 20 (2004) 387-490.
- [7] R. Salazar, M.E. Pozos, P. Cordero, J. Perez, M.C. Salinas, N. Waksman, Determination of the antioxidant activity of plants from northeast Mexico, Pharm. Biol. 46 (2008) 166–170.
- [8] S. Georgieva, L. Boyadzhiev, G. Angelov, Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant, Revue de génie industriel. 5 (2010) 124-132.
- [9] Q. Yingkum, C. Yingjie, P. Yupin, M. Hisashi , Y. Masayuki, Constituents with radical scavenging effect from *Opuntia dillenii*: Structures of new co-pyrones and Flavonol glycoside, Chem. Pharm. Bull. 50 (2002) 1507-1510.
- [10] P. Molyneux, The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, J. Sci. Technol 26 (2004) 211-219.
- [11] E. Portes, Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes: Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. Thèse de doctorat en chimie organique, Université Bordeaux, 2008.
- [12] C. Sarikurkcü, B. Tepe, M. Yamac, Evaluation of the antioxidant activity of four edible mushrooms from the Central Anatolia, Eskisehir–Turkey: *Lactarius deterrimus*, *Suillus collitinus*, *Boletus edulis*, *Xerocomus chrysenteron*, Bioresour. Technol. 99 (2008) 6651–6655.
- [13] U.N. Wanasundara, F. Shahidi, Canola Extract as an Alternative Natural Antioxidant for Canola Oil, JAOCS 71 (1994) 817–822.
- [14] J.E. Swanson, R.S. Pararker, Biological effect of carotenoids in humans. In Cadenas E, Packer L (eds). Handbook of Antioxidants. New Yourk : Marcel Dekker, inc. 1996.

- [15] M. Oyaizu, Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, *Jpn. J. Nutr* 44 (1986) 307–315.
- [16] A. Yildirim, A. Mavi, A. Kara, Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2001) 4083–4089.
- [17] Y-C. Chung, C-T. Chang, W-W. Chao, C-F. Lin, S-T. Chou, Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (2002), 2454–2458.
- [18] M.E. Ortiz, L.J. Núñez-Vergara, J.A. Squella, Cyclic voltammetric behaviour of the O_2/O_2^- redox couple at a HMDE and its interaction with nisoldipine, *J. Electroanal. Chem.* 519 (2002) 46–52.
- [19] T. Sun, W. Xie, P. Xu, Superoxide anion scavenging activity of graft chitosane derivatives, *Carbohydr. Polym.* 58 (2004) 379–382.
- [20] M. Mohammad, A.Y. Khan, M.S. Subhani, N. Bibi, S. Ahmad, S. Saleemi, Kinetics and electrochemical studies on superoxide, *Res. Chem. Intermed.* 27 (2001) 259–267.
- [21] L.M. Magalhães, M.A. Segundo, S. Reis, J.L. Lima, Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, *Anal. Chim. Acta.* 613 (2008) 1–19.
- [22] D.T. Sawyer, *Oxygen Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, 1991.
- [23] D. Vasudevan, H. Wendt, Electroreduction of oxygen in aprotic media, *J. Electroanal. Chem.* 392 (1995) 69–74.
- [24] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications*, 2nd ed. John Wiley and Sons, New York, 2001.
- [25] R. Greef, R. Peat, D. Pletcher, *Instrumental Methods in Electrochemistry*. Southampton Electrochemistry Group, Ellis Horwood Limited. New Yourk, 1985.
- [26] C. Sanchez-Moreno, Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems, *Int. J. of Foods Sci. Tech* 8 (2002) 121–137.
- [27] J. Besson, J. Guittan, *Manipulation d'électrochimie*, Masson, 19 France, 1975.
- [28] M. Tsushima, K. Tokuda, T. Ohsaka, Use of hydrodynamic chronocoulometry for simultaneous determination of diffusion coefficients and concentrations of dioxygen in various media, *Anal. Chem.* 66 (1994) 4551–4556.
- [29] C. Le Bourvellec, D. Hauchard, A. Darchen, J.L. Burgot, M.L. Abasq, Validation of a new method using the reactivity of electrogenerated superoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoids, *Talanta* 75 (2008) 1098–1103.

- [30] Y. Mizushima, M. Kobayashi, Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins, *J Pharma Pharmacol.* 20 (1968) 169-173.
- [31] S. Sakat, A.R. Juvekar, M.N. Gambhire, In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn, *Int J Pharma and Pharm Sci.* 2 (2010) 146-155.
- [32] S. Benkherara, O. Bordjiba, A.B. Djahra, Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinalis: *Salvia officinalis* L. Sur quelques entérobactéries pathogènes, *Revue Synthèse* 72 (2011) 72-80.
- [33] M. Lis-Balchin, S.L. Hart, S.G. Deans, Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils (*Melaleuca alternifolia*, *Leptospermum scoparium* or Manuka and *Kunzea ericoides* or Kanuka), originating in Australia and New Zealand, *Phytotherap. Research.* 14 (2000) 623-629.
- [34] S.A. Burt, R.D. Reinders, Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7, *Lett. Appl. Microbiol.* 36 (2003) 162-167.
- [35] (a) C. Baliere. Les *Escherichia Coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral: cas des STEC et des EPEC, Doctoral dissertation, Université de Bretagne Occidentale, 2016. (b) A. Philippon, Quelques bacilles à Gram négatif aérobies stricts non fermentaires et sensibilité aux antibiotiques, *Lett. Infectiol.* 10 (1995) 619-630. (c) R. Teyssou, P. Hance, E. Nicand, J.Y. Nizou, Y. Buisson. Les infections à *Bacillus cereus*: bactériologie, clinique et traitement. *Lett Infect*, 13(3) (1998) 99-104. (d) H. F. Chambers, Methicillin Resistance in *Staphylococci*: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications, *Clin. Microbiol. Rev.* 10 (1997) 781-791.
- [36] D. Malagoli, A full-length protocol to test hemolytic activity of palytoxin on human erythrocytes. *ISJ* 4, (2007) 92-4.
- [37] C. Fiaud, Inhibiteurs de corrosion, *Techniques de l'ingénieur*, COR1005.
- [38] D. Landolt, Corrosion et Chimie de Surface des Métaux. *Traité des matériaux*, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, 1993.
- [39] C. Fiaud, C. Lemaitre, N. Pebere, Inhibiteurs de corrosion, In : G. Beranger, H. Mazille, Corrosion et anticorrosion (pratique industrielle), *Mécanique et ingénierie des Matériaux*, Lavoisier, Paris, Hermès Science Publications (2002) 245-266.
- [40] C.C. Nathan, Corrosion Inhibitors, National Association of Corrosion Engineers (NACE), Houston, 1973.

- [41] S. Issaadi, T. Douadi, S. Chafaa, Adsorption and inhibitive properties of a new heterocyclic furan Schiff base on corrosion of copper in HCl 1 M: experimental and theoretical investigation, *Appl. Surf. Sci.* 316 (2014) 582–589;
- [42] Q.B. Zhang, Y. Hua, Corrosion inhibition of mild steel by alkylimidazolium ionic liquids in hydrochloric acid, *Electrochim. Acta.* 54 (2009) 1881-1887.
- [43] N. Chafai, S. Chafaa, K. Benbouguerra, D. Daoud, A. Hellal , M. Mehri , Synthesis, characterization and the inhibition activity of a new α -aminophosphonic derivative on the corrosion of XC48 carbon steel in 0.5 M ; H_2SO_4 : Experimental and theoretical studies , *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 70 (2017) 331–344
- [44] K. Benbouguerra, S. Chafaa, N. Chafai, M. Mehri, O. Moumeni, A. Hellal, Synthesis, spectroscopic characterization and a comparative study of the corrosion inhibitive efficiency of an α -aminophosphonate and Schiff base derivatives: Experimental and theoretical investigations, *J. Mol. Struct.* 1157 (2018) 165-176
- [45] J.J. Lamoureux, *Précis de Corrosion*, MASSON, 1994.
- [46] K. Daoud, *Propriétés électroniques et élastiques des semi-conducteurs anorganiques*, Thèse Doctorat en sciences, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 2012.
- [47] K. Kassali, *Thèse de Doctorat d'état*, Université Ferhat Abbas Sétif -1, 2005.
- [48] H. Aourag, *Pseudo potential method theory and practice*, Winter College on Computational condensed matter physics, University of Sidi Bel-Abbes (1995).
- [49] P. Hohenberg, W. Kohn, Inhomogeneous electron gas, *Phys. Rev. B.* 136 (1964) B864-B871.
- [50] W. Kohn, L.J. Sham, Self-Consistent equations including exchange and correlation effects, *Phys. Rev. A.* 140 (1965) A1133-A1138.
- [51] C. Pisani, R. Dovesi, C. Roetti, *Hartree-Fock ab-initio treatment of crystalline systems*, Springer-Verlag, 1986.
- [52] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H.P. Hratchian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J.A. Montgomery Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J.

Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, V.G. Zakrzewski, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, A.D. Daniels, O. Farkas, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, J. Cioslowski, D.J. Fox, Gaussian 09, Revision A.02, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2009.

[53] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, J. Chem. Phys. 98 (1993) 5648-5652.

[54] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, Development of the Colle Salvetti correlation energy formula into a functional of the electron density, Phys. Rev. B 37 (1988) 785-789.

Chapitre III
Synthèse
et caractérisation

III.1. Introduction

Dans ce chapitre nous décrivons le procédé appliqué pour la synthèse de trois molécules appartenant à la famille d'acides α -aminométhylphosphoniques :

Acide N-Ethyliminodimethylenediphosphonique (N-EDMPA)

Acide N-Propyliminodimethylenediphosphonique (N-PDMPA)

Acide Ethylenediamine tetra-méthylenephosphonique (EDTMP)

il s'agit de la réaction directe de *Moedritzer-Irani* qui consiste à faire réagir trois composants: une amine aliphatique, l'acide phosphoreux et le formaldéhyde. Nous nous présentons ensuite les différentes méthodes physicochimiques et spectroscopiques telles que l'UV-Vis, FT-IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , RMN ^{31}P utilisées pour l'identification des structures des composés obtenus.

III.2. Réactifs et solvants utilisés

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail sont des produits commercialisés de type, Sigma-Aldrich ou Fluka, ils sont utilisés sans traitement préalable.

Tableau III. 1: Caractères physicochimiques principaux des réactifs utilisés.

Réactifs	Pureté	Formule brute	M (g/mol)	Densité	Structure chimique
Ethylamine	99%	$\text{C}_2\text{H}_7\text{N}$	45.08	0.689	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$
Propylamine	98%	$\text{C}_3\text{H}_9\text{N}$	59.11	0.719	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$
Ethylènediamine	98%	$\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2$	60.09	0.90	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$
Acide phosphoreux	50%	H_3PO_3	82.00	1.651	$\text{HO}-\text{P}(\text{OH})-\text{H}$
Formaldéhyde	36.5%	CH_2O	30.03	0.851	$\text{H}-\text{C}(\text{H})=\text{O}$

Tableau III. 2 : Caractères physicochimiques des solvants utilisés.

Solvants	Formule brute	M (g/mol)	Pureté	T d'ébullition (°C)
L'eau distillée	H ₂ O	18.00		100
Acide chlorhydrique	HCl	36.46	36%	61
Diméthylsulfoxyde DMSO	C ₂ H ₆ OS	78.13	99.8%	191

III.3.Montage utilisé pour la synthèse et la séparation

Le montage expérimental utilisé dans la synthèse est constitué des éléments suivants :

*Plaque chauffante avec agitation.

*Ballon à tri colles, Réfrigérant serpentant, Thermomètre, barreau magnétique

*Un bain de sable.

Pour la séparation des molécules étudiées on utilise un Rotavapeur (Laborota 4000 Heidolph).

III.4. Choix de réaction et synthèse des molécules ciblées

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour la synthèse des molécules substituées par les groupements nitrilodiméthylène diphosphonate (-N [CH₂P(O) (OH)₂]₂), chacune de ces méthodes possède une certaine limite d'utilisations [1]. Parmi les méthodes les plus intéressantes on cite les travaux de *Kabachnik-Fields et Medved* décrivant la préparation des acides α-aminométhylphosphoniques par hydrolyse des esters α-aminométhylphosphonates correspondants [2].

En 1966, *Moedritzer et Irani* [3] ont rapporté une méthode nouvelle et directe pour la préparation des acides α-aminométhylphosphoniques on utilisant l'acide phosphoreux, formaldéhyde et des amines selon la réaction :

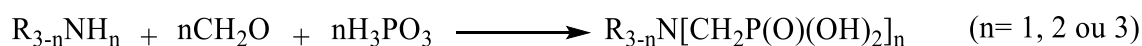


Schéma III. 1 : Réaction de Moedritzer – Irani.

Dans notre travail on a choisi le procédé décrit par *Moedritzer - Irani* pour la synthèse des acides désirés, cette méthode est moins utilisée par rapport à celle de *Kabachnik-Fields*, mais elle a l'avantage de donner directement l'acide α-aminophosphonique sans l'étape d'hydrolyse, cette réaction est effectuée en milieu aqueux sans solvant organique, ce qui argumente son choix (l'eau est solvant peu coûteux, non inflammable et non toxique).

III.4.1. Synthèse de l'acide N-Ethyliminodimethylenediphosphonique (N-EDMPA)

Dans un ballon bicol à fond rond de 250 mL on solubilise 0.1 mol d'éthylamine (6.54 mL) et 0.2 mol d'acide phosphoreux 50% (32.8 g), dans 100 mL d'eau distillée et 50 mL de l'acide chlorhydrique 36%, ensuite le mélange a été chauffé à reflux pendant 2 heures sous agitation, puis le formaldéhyde (36.5%, 0.4 mol) a été ajouté goutte à goutte au mélange réactionnel. Le mélange résultant a été laissé sous reflux pendant 4 heures. La solution limpide est refroidie à température ambiante, aucun précipité n'a été formé durant la période de refroidissement. Le solvant en excès a été évaporé au minimum sous pression réduite par un évaporateur rotatif. L'ajout de l'éthanol à la solution restante, conduit à la formation d'un solide blanc, celui-ci a été séparé par filtration, lavé plusieurs fois avec l'éthanol à température ambiante, après séchage le solide obtenu a été caractérisé par les méthodes physico-chimiques habituelles.

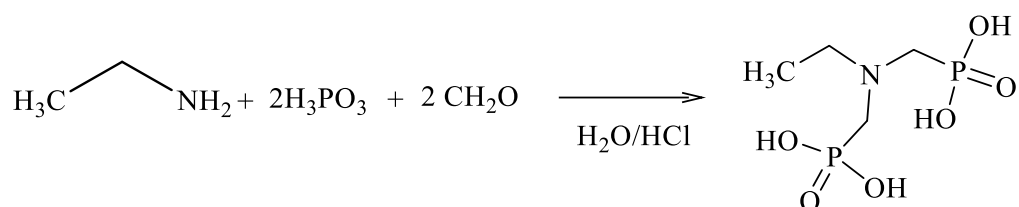


Schéma III. 2 : Séquence réactionnelle générale de synthèse de l'acide N-Ethyliminodimethylenediphosphonique (N-EDMPA).

III.4.2. Synthèse de l'acide N-Propyliminodimethylenediphosphonique (N-PDMPA)

Pour préparer l'acide N-Propyliminodimethylenediphosphonique (N-PDMPA), on mélange 0.1 mol (8,22 mL) de propylamine avec 0.2 mol d'acide phosphoreux 50% (32.8 g) dans 100 mL d'eau distillée et 50 mL de l'acide chlorhydrique, ce mélange est alors mis sous agitation magnétique à reflux. Après 2 h on ajoute 0.4 mol de formaldéhyde goutte à goutte. Au bout de 4 h et après refroidissement du mélange réactionnel, celui-ci est évaporé puis on ajoute une quantité d'éthanol au résidu obtenu, on observe la formation d'un précipité blanc, qui sera séparé par filtration et lavé avec l'éthanol.

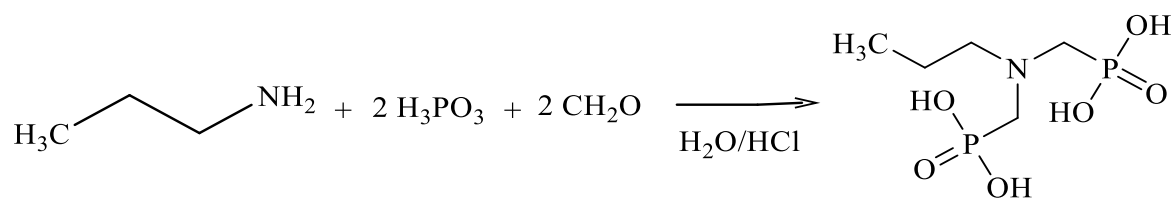


Schéma III. 3 : Séquence réactionnelle générale de synthèse de l'acide *N*-Propyliminodimethylenediphosphonique (*N*-PDMPA).

III.4.3. Synthèse d'acide Ethylenediamine tetra-methylenephosphonique (EDTMP)

L'EDTMP a été obtenu selon la même procédure, à partir de la réaction de 0.1 mol d'éthylènediamine avec 0.4 mol d'acide phosphoreux 50% (65.6 g) dans 100 mL d'eau distillée et 50 mL de l'acide chlorhydrique, après 2 h on ajoute 0.8 mol de formaldéhyde (65.8 g). Après 4 h le mélange réactionnel est évaporé et on ajoute une quantité d'éthanol au résidu obtenu, on observe la formation d'un précipité blanc, qui sera filtré et lavé avec l'éthanol, le produit obtenu a été caractérisé après séchage.

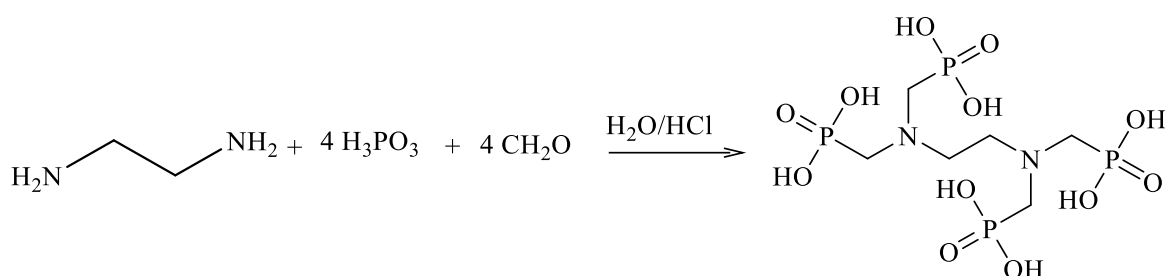


Schéma III. 4 : Séquence réactionnelle générale de synthèse d'acide Ethylenediamine tétraméthylénephosphonique (EDTMP).

III.5. Mécanismes réactionnels

La synthèse des acides α -aminophosphoniques (N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP) se fait selon la réaction de *Moedritzer-Irani*, qui est analogue à la réaction de *Mannich*. La réaction nécessite un milieu fortement acide et un chauffage à reflux. Les étapes de la réaction peuvent être résumées comme suit :

1. Protonation du formaldéhyde en milieu acide.
2. Attaque nucléophile par les doublets libres de la fonction amine sur le carbocation formé et la formation d'un iminium.
3. Attaque nucléophile de l'acide phosphoreux.

Il a été constaté qu'une acidité élevée augmente la vitesse de la réaction et améliore le rendement. Un pH bas contribue également à inhiber l'oxydation du phosphite en phosphate.

L'atome d'hydrogène directement lié au phosphore dans l'acide phosphoreux est nécessaire à ce type de réaction [3].

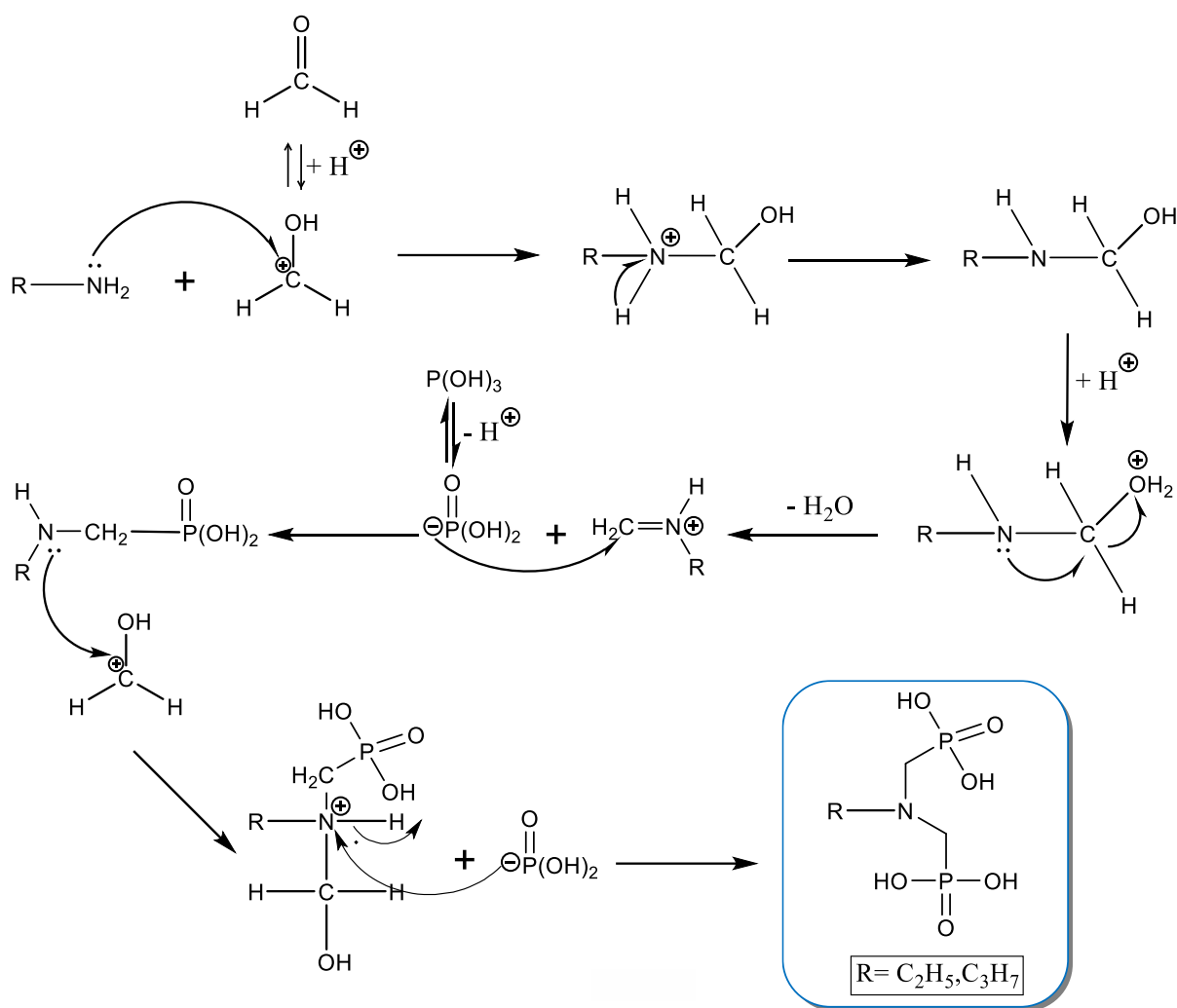


Schéma III. 5 : Mécanisme réactionnel proposé pour la formation des acides N-EDMPA et N-PDMPA.

Le mécanisme réactionnel d'Irani [4] à partir d'une diamine peut être résumé comme suit :

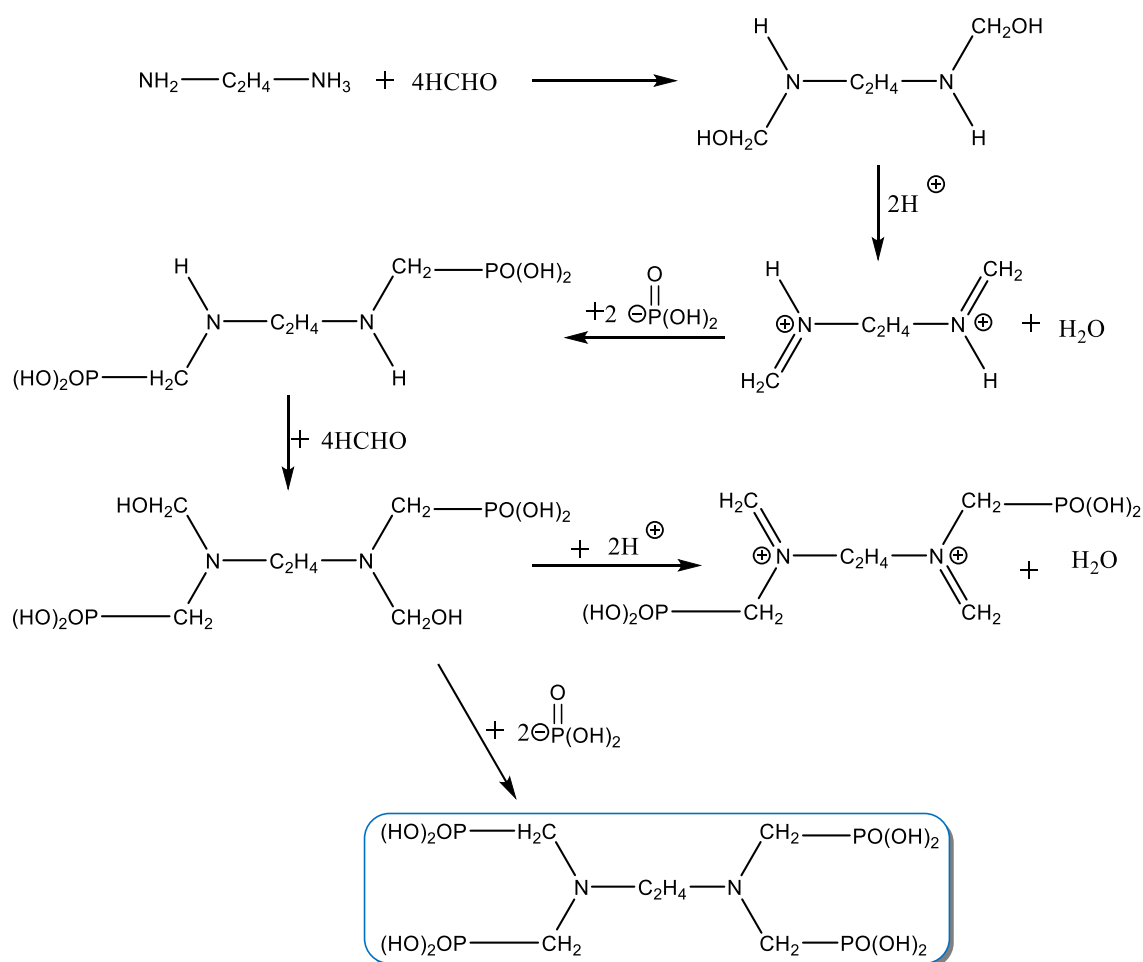


Schéma III. 6 : Mécanisme réactionnel proposé pour la formation de l'acide EDTMP.

III.6. Caractérisation des produits synthétisés

Tous les produits synthétisés sont des solides et se présentent sous forme de poudre blanche. Le changement de l'état physique des produits obtenus par rapport ceux des produits de départ c'est un indice significatif sur la formation de nouveaux produits.

Les résultats ont montré que les acides α -aminophosphoniques synthétisés sont des composés stables à l'air et à température ambiante. Des tests de solubilité effectués dans les solvants habituels montrent que les composés N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP sont parfaitement solubles dans l'eau et dans les solvants polaires.

Aucun sous-produit n'a été révélé par analyse chromatographique et les composés ont été isolés avec un bon rendement (Tableau III.3).

III.6.1. Température de fusion

Les résultats montrent que les produits synthétisés ont des températures de fusion (T_f) élevée (Tableau III. 3).

Tableau III. 3 : *Caractères physicochimiques principaux des produits synthétisés.*

<i>Produits</i>	<i>Formule brute</i>	<i>M (g/mol)</i>	<i>Couleur</i>	<i>Rendement</i>	<i>T_f (°C)</i>
<i>N-EDMPA</i>	$C_4H_{13}NO_6P_2$	233.097	Blanc	85%	207
<i>N-PDMPA</i>	$C_5H_{15}NO_6P_2$	247.123	Blanc	83%	184
<i>EDTMP</i>	$C_6H_{20}N_2O_{12}P_4$	436.124	Blanc	79%	239

III.6.2. Analyse élémentaire

Les résultats de l'analyse élémentaire sont fournis avec une précision absolue de $\pm 0,3\%$ et sont validés pour deux essais minimums.

Les résultats expérimentaux des pourcentages de carbone, hydrogène et d'azote trouvés pour l'acide N-PDMPA synthétisé confirment l'analyse théorique et conduit à la formule chimique suivante : $C_5H_{15}NO_6P_2$ (Tableau III.4).

Tableau III. 4 : *Pourcentage expérimental et théorique des éléments C, H et N dans le composé N-PDMPA.*

<i>Formule brute</i>	<i>Résultats</i>	<i>C%</i>	<i>H%</i>	<i>N%</i>
$C_5H_{15}NO_6P_2$	Résultat expérimental	24.96%	6.12%	6.0%
	Calcule théorique	24.30%	6.12%	5.67%

II.6.3. Caractérisation spectroscopique

Le produit de départ et les produits synthétisés, sont caractérisés par les méthodes spectroscopiques : UV-Vis, IR et RMN

III.6.3.1. Caractérisation des produits synthétisés par la spectrophotométrie UV-Vis

La spectrophotométrie UV-Vis nous a permis la mise en évidence des bandes d'absorption caractéristiques des différents produits impliqués dans ce travail, tous les spectres ont été enregistrés en DMSO dans le domaine d'ultraviolet visible allant de 200 à 800 nm, ce qui a facilité leur comparaison et l'observation des modifications notables entre les réactifs et les molécules synthétisées d'une part et entre les produits synthétisés eux-mêmes d'autre part.

Les figures III. 1 (a, b, c) représentent les spectres d'absorption UV-Visible des différents acides synthétisés et leurs produits de départ.

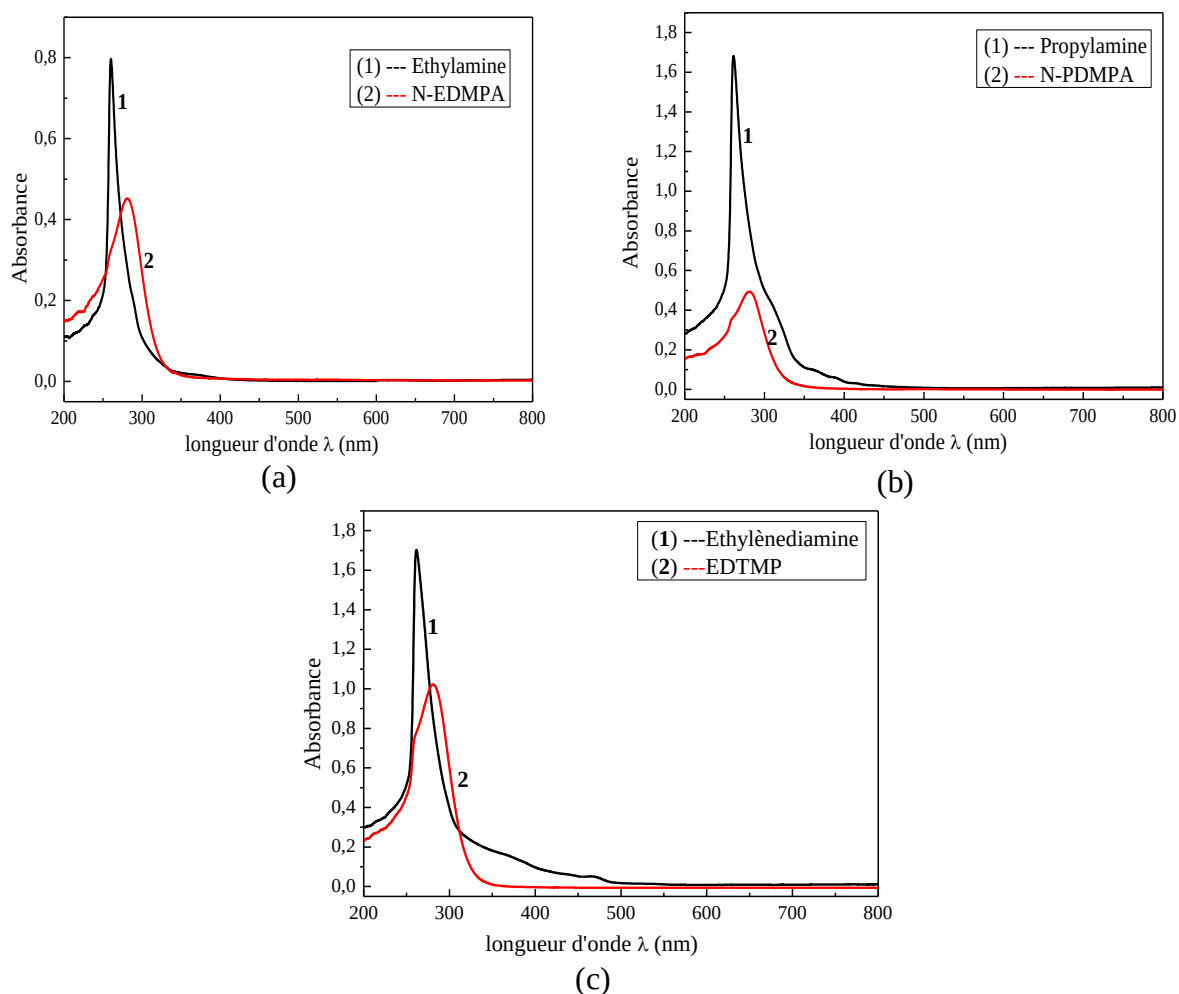


Figure III. 1: Spectre UV-Vis dans le DMSO:

(a) N-EDMPA et d'éthylamine.

(b) N-PDMPA et d'propylamine.

(c) EDTMP et d'éthylènediamine.

Les spectres d'absorption UV-Visible des produits de départ (éthylamine, propylamine et éthylènediamine) sont caractérisés par une forte bande d'absorption située dans l'ultraviolet aux alentours de 258-261 nm correspondant à la transition électronique $n \rightarrow \sigma^*$ [5].

La comparaison des spectres des produits synthétisés avec ceux des produits de départ (amines), montre des déplacements bathochromes (augmentation de la longueur d'onde $\lambda_{\max}$), ces déplacements peuvent être expliqués par la présence des groupements acides phosphoniques dans les structures moléculaires des acides synthétisés. L'apparition de ces

bandes dans la région UV peut être assignée aux transitions $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$, ce type de transition est lié à la présence des hétéroatomes (O, N et P).

Les spectres enregistrés dans la région du visible montrent que ces composés sont transparents et ne présentent aucune absorption.

Les spectres UV-Vis ont été exploités selon la loi de *Beer-Lambert* pour caractériser les différentes molécules par leurs coefficients d'extinctions spécifiques (ϵ). Les valeurs des longueurs d'ondes ($\lambda_{\max}$) et des coefficients d'extinctions spécifiques (ϵ) sont regroupées dans le tableau III. 5.

Tableau III. 5 : Paramètres spectrales caractéristiques des spectres UV-Vis des produits de départ et des acides synthétisés enregistrés en DMSO à température ambiante.

Produits	C ($\mu\text{g/mL}$)	$\lambda_{\max}$ (nm)	Absorbance	ϵ (l /cm.mol)
N-EDMPA	500	282 (258 pour éthylamine)	0.451	210
N-PDMPA	500	282 (263 pour propylamine)	0.493	245
EDTMP	500	282 (262 pour éthylenediamine)	1.015	889

On constate que les $\lambda_{\max}$ caractéristiques des dérivées amines sont pratiquement identiques, ceci explique pourquoi les phosphonates obtenues ont la même $\lambda_{\max}$, néant au moins, les coefficients (ϵ) des molécules synthétisées, sont bien différents (Figure III. 2).

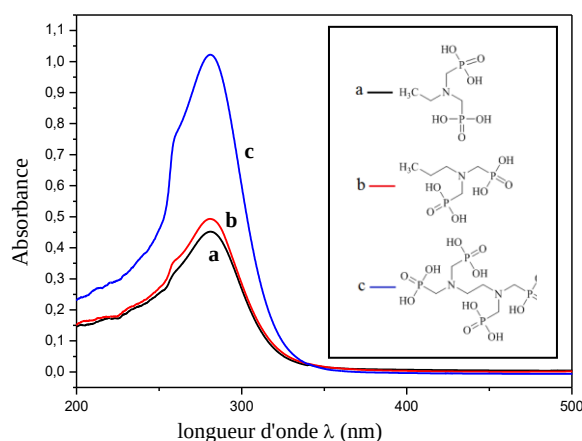


Figure III. 2: Spectres UV-Vis enregistré en DMSO $C_m=500 \mu\text{g/mL}$; $l=1\text{cm}$, des composés N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP.

Les spectres de la figure III. 2 enregistrés aux mêmes concentrations, présentent un effet Hyperchrome clair des bandes caractéristiques des acides synthétisés, ceci confirme

selon la loi de *Beer Lambert* la différence entre les coefficients d'extinction et la différence entre les masses moléculaires des trois acides obtenus.

III.6.3.2. Caractérisation des produits synthétisés par spectroscopie FT-IR

Les figures III. (3, 4, 5), illustrent les spectres IR des composés acides synthétisés: N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP et ceux des produits de départ correspondants.

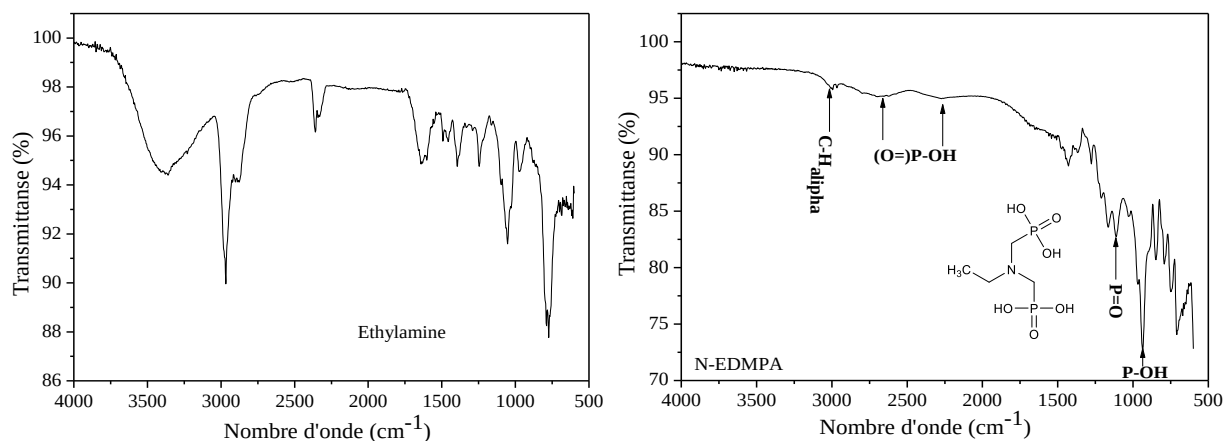


Figure III.3: Spectre IR d'éthylamine et d'acide *N*-Ethyliminodimethylenediphosphonique (*N*-EDMPA).

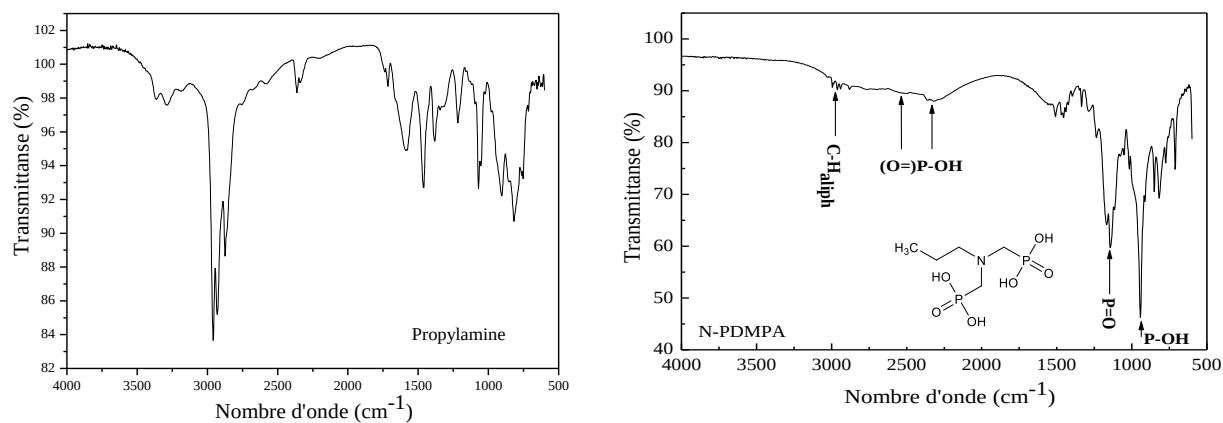


Figure III.4: Spectre IR de propylamine et d'acide *N*-Propyliminodimethylenediphosphonique (*N*-PDMPA).

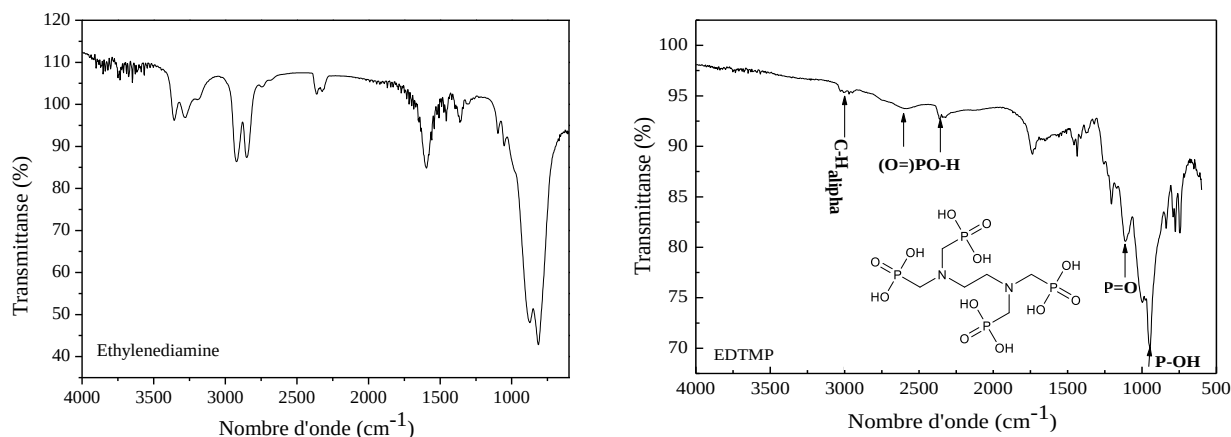


Figure III.5: Spectre IR d'éthylènediamine et d'acide Ethylenediamine tetramethylenephosphonique (EDTMP).

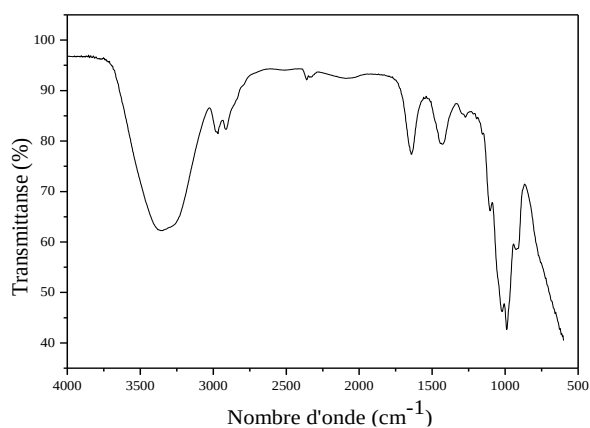


Figure III.6: Spectre IR de formaldéhyde.

Les spectres IR des amines propylamine et d'éthylènediamine (Figures III. (4, 5)) montrent deux bandes d'intensité moyenne, situées à ($3361, 3284 \text{ cm}^{-1}$; $3368, 3284 \text{ cm}^{-1}$) respectivement attribuées à l'amine primaire, pour l'éthylamine, l'empreinte de l'amine primaire n'a pas été correctement observée sur son spectre IR, ce résultat converge parfaitement aux spectres trouvés dans la littérature. Ces bandes représentent les modes d'élongation symétrique et asymétrique de la liaison N-H. On observe pour les trois amines un pic d'intensité moyenne à $1638, 1589$ et 1591 cm^{-1} attribué aux vibrations de déformation angulaire de la liaison N-H (cisaillement) de l'amine primaire.

Les spectres enregistrés pour les trois produits synthétisés, (Figures III. (3, 4, 5)), indiquent sans ambiguïté des différences bien claires entre les amines de départ et les composés synthétisés, ce qui différencie ces spectres s'est surtout la disparition totale de la

bande empreinte de l'amine primaire sur les spectres des molécules synthétisées et l'apparition des nouvelles bandes d'absorption caractéristiques des composés phosphorés.

Plusieurs bandes attribuables aux groupements phosphonates sont observées sur les spectres IR des acides, en particulier :

* Dans la zone allant de $2700 - 2300 \text{ cm}^{-1}$ on trouve les bandes caractéristiques des groupements - PO-H de l'acide phosphonique, ces pics sont absents sur le spectre du produit de départ.

* Dans la zone allant de 1299 cm^{-1} à 1100 cm^{-1} on trouve le pic caractéristique de la liaison P = O [6].

On observe un déplacement du pic caractéristique de la liaisons C-N vers les fréquences les plus élevés. Nous pouvons également remarquer la disparition du pic attribué au groupement carbonyle C=O de formaldéhyde situé vers (1750 cm^{-1}) (Figure III.6).

La figure III.3 présente le spectre IR du N-EDMPA, les bandes de faible intensité observées à $2999, 2965 \text{ cm}^{-1}$ sont assignées aux vibrations d'élongation symétrique de liaison (C-H) aliphatiques. Les deux bandes observées à 2667 et 2272 cm^{-1} sont attribuées aux vibrations d'élongation PO-H des acides phosphoniques, tandis que le mode de déformation dans le plan asymétrique C-H de CH_3 et CH_2 sont situés à 1436 et 1336 cm^{-1} . La bande IR faible situé à 1275 cm^{-1} est affectée à C-N en mode de vibration d'élongation. La bande correspondant au mode d'élongation P = O apparaît à 1106 cm^{-1} . Les bandes à 937 cm^{-1} et 709 cm^{-1} correspondant respectivement à δ (P-OH) et ν (P-C).

Le spectre du composé N-PDMPA (Figure III.4) est caractérisé par les pics de fréquence situés à 2991 cm^{-1} et 2975 cm^{-1} attribués aux vibrations d'élongation de (C-H) aliphatique. Les deux bandes situés à 2535 cm^{-1} et 2323 cm^{-1} correspondent à l'élongation de liaison PO-H. La bande faible située à 1283 cm^{-1} est attribuée à la liaison (C-N). Les bandes de vibrations ν (P=O), δ (P-OH) et ν (C-P) sont localisées à 1138 cm^{-1} , 935 cm^{-1} et 715 cm^{-1} respectivement, caractérisant le groupement phosphonates (C- P (O) OH).

Dans le spectre de l'acide phosphonique EDTMP (Figure III.5) la vibration d'élongation du (C-H) aliphatique présente deux bandes d'absorptions fiables à 2999 cm^{-1} et 2965 cm^{-1} , les deux bandes larges situées à 2593 cm^{-1} et 2357 cm^{-1} correspondent aux modes de vibration de ν (O-H) du groupement acide phosphonique, en plus on observe sur le spectre d'EDTMP les bandes ν (P=O), δ (P-OH) et ν (P-C) correspondant respectivement aux

fréquences 1115 cm^{-1} , 946 cm^{-1} et 742 cm^{-1} . Ce qui confirme la formation du composé acide désiré.

Les valeurs des fréquences des principaux pics caractéristiques des produits synthétisés et produits de départ, sont résumées dans le tableau III. 6.

Tableau III. 6 : Principaux pics caractéristiques des vibrations IR des produits synthétisés et leurs produits de départ correspondants.

Fréquences cm^{-1}							Attribution
Forma- ldéhyde	Amine1	N- EDMPA	Amine2	N- PDMPA	Amine3	EDTMP	
/		/	3361 3284	/	3357 3283	/	$\bar{\nu}_{\text{N-H}}$ amine
/	2965 2889	2999 2965	2964 2929 2869	2991 2975	2921 2847	2999 2965	$\bar{\nu}_{\text{C-H}}$ aliphatique
/	/	2667 2272	/	2535 2323	/	2593 2357	$\bar{\nu}_{(\text{O=})\text{PO-H}}$
/	1638	/	1589	/	1591	/	$\delta_{\text{N-H}}$
1750	/	/	/	/	/	/	$\bar{\nu}_{\text{-C=O}}$
/	1240	1275	1213	1283	1096	1207	$\bar{\nu}_{\text{C-N}}$
/	/	1106	/	1138	/	1115	$\bar{\nu}_{\text{P=O}}$
/	/	937	/	935	/	946	$\delta_{\text{P-OH}}$
/	776	/	815	/	810	/	$\gamma_{\text{N-H}}$
/	/	709	/	715	/	742	$\bar{\nu}_{\text{P-C}}$

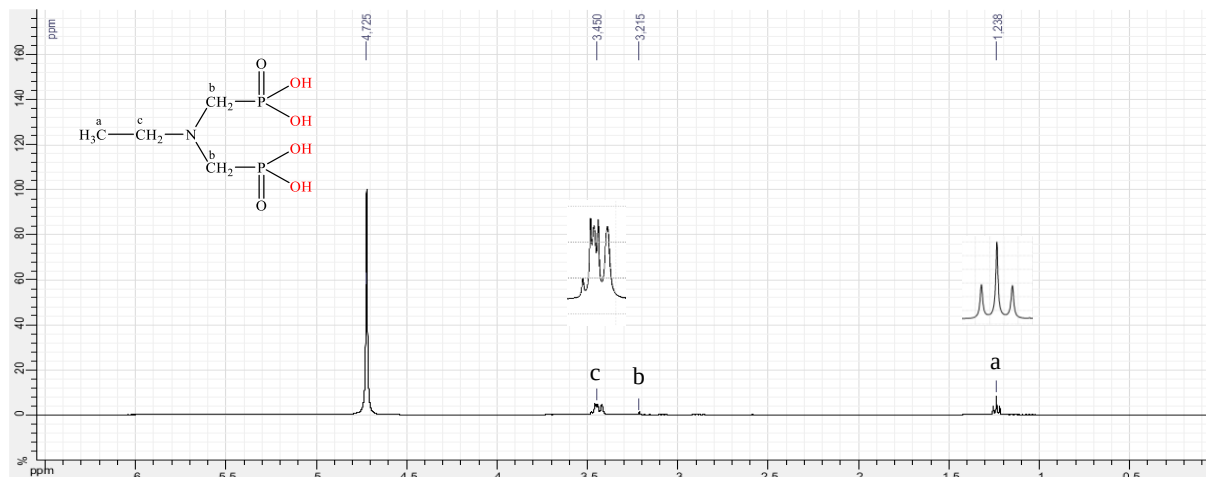
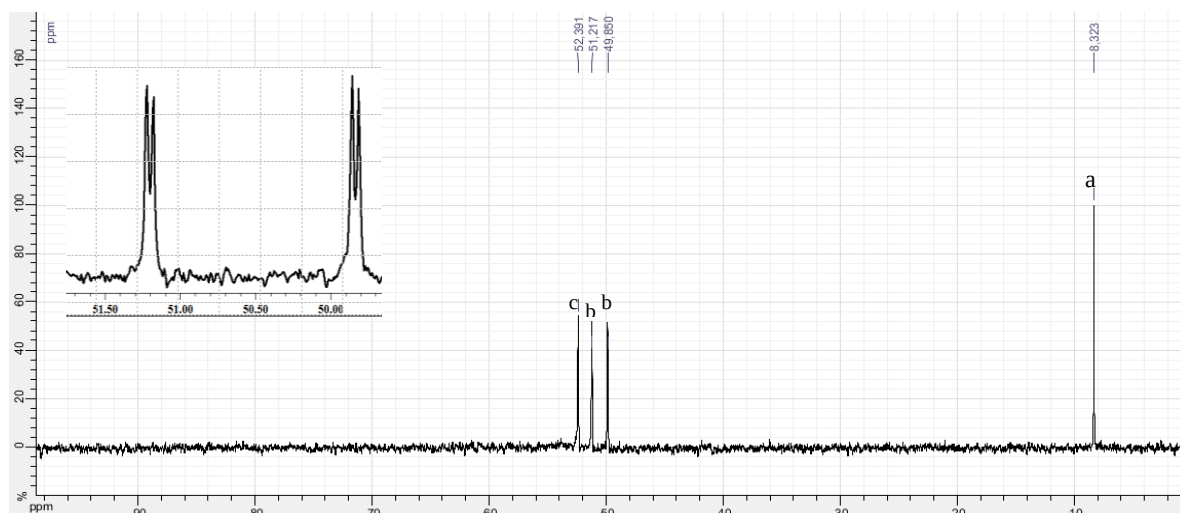
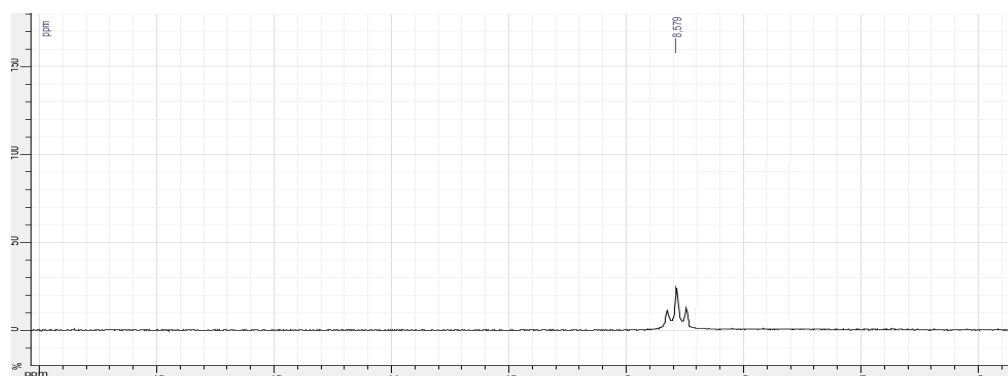
Amine1: Ethylamine ; **Amine2 :** Propylamine ; **Amine3 :** Ethylènediamine.

III.6.3.3. Caractérisation des produits synthétisés par RMN ^1H , RMN ^{13}C et RMN ^{31}P

Les déplacements chimiques δ (ppm) et le couplage des protons observés sur les spectres RMN de ^1H , ^{13}C et ^{31}P des produits synthétisés a permis de confirmer les structures attendues. L'interprétation des spectres RMN a été comparée avec les données de la littérature.

a- RMN de l'acide N-EDMPA

Les spectres RMN ^1H , RMN ^{13}C et RMN ^{31}P caractéristiques de l'acide N-EDMPA sont présentés par la figure III.7.

(a) Spectre RMN ^1H dans D_2O .(b) Spectre RMN ^{13}C dans D_2O .(c) Spectre RMN ^{31}P dans DMSO-d_6 .**Figure III. 7:** Spectre RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P de N-EDMPA.

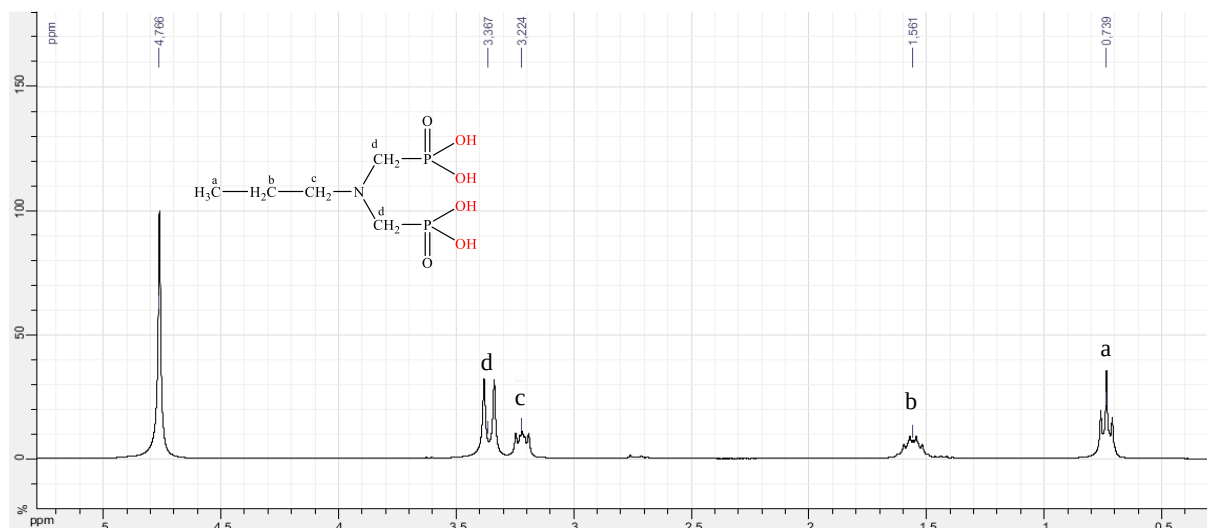
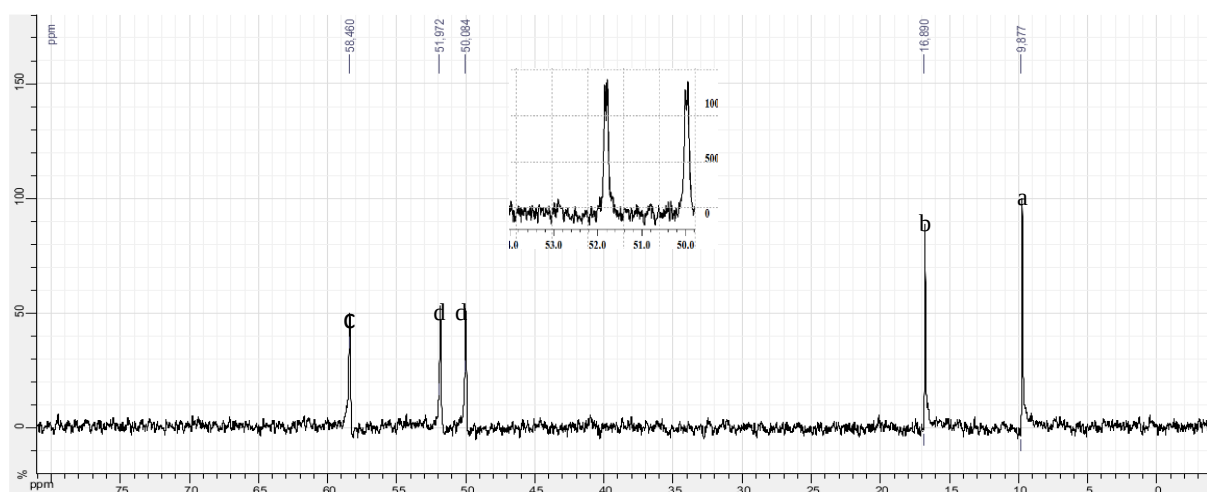
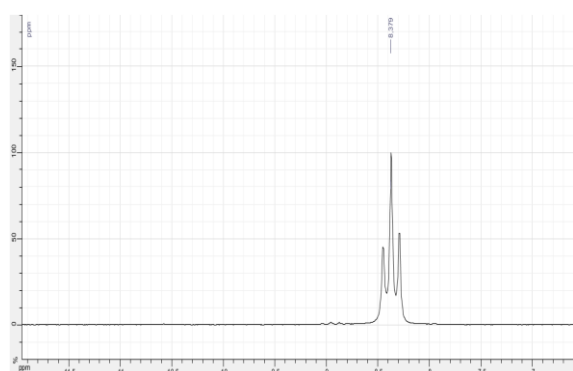
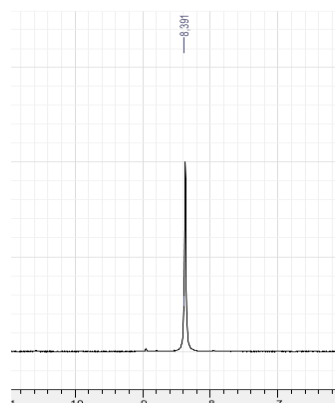
Le spectre RMN ^1H (Figure III. 7-a) révèle les déplacements chimiques suivants: un triplé situé à 1.22 ppm correspondant aux protons de carbone (a) avec une constante de couplage $J_{\text{H-H}} = 7.2$ Hz, un signal à 3.21 ppm correspondant aux protons du groupement méthylène lié au phosphore (carbone b); un multiplet à 3.45 du proton de carbone (c), le signal des protons de l'acide est situé vers 4.72 ppm.

L'analyse du spectre RMN ^{13}C (Figure III. 7-b) présente les signaux caractéristiques suivants : un signal à 8.32 ppm correspondant au carbone (a), deux signaux situés à 49.81 et 51.21 ppm correspondant aux carbone des groupements méthylène liés au phosphore ces signaux se présentent sous forme d'un doublet à cause du couplage du carbone avec le phosphore ($J_{\text{C-P}} = 4.4$ Hz), le signal du carbone (c) est situé à 52.39 ppm.

L'analyse du spectre RMN ^{31}P (Figure III. 7-c) présente un signal situé à 8.57 ppm correspondant au groupement phosphonate de l'acide phosphonique. Ce signal se présente sous forme d'un triplet à cause du couplage du phosphore avec l'hydrogène ($J_{\text{P-H}} = 12.7$ Hz).

b- RMN de l'acide N-PDMPA

La structure attendue pour l'acide N-PDMPA, est confirmée par RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P les spectres caractéristiques correspondants sont présentés sur la Figure III.8.

(a) Spectre RMN ^1H dans D_2O .(b) Spectre RMN ^{13}C dans D_2O .(c) Spectre RMN ^{31}P couplé dans DMSO-d_6 .Spectre RMN ^{31}P découplé dans DMSO-d_6 .**Figure III.8:** Spectre RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P de N-PDMPA.

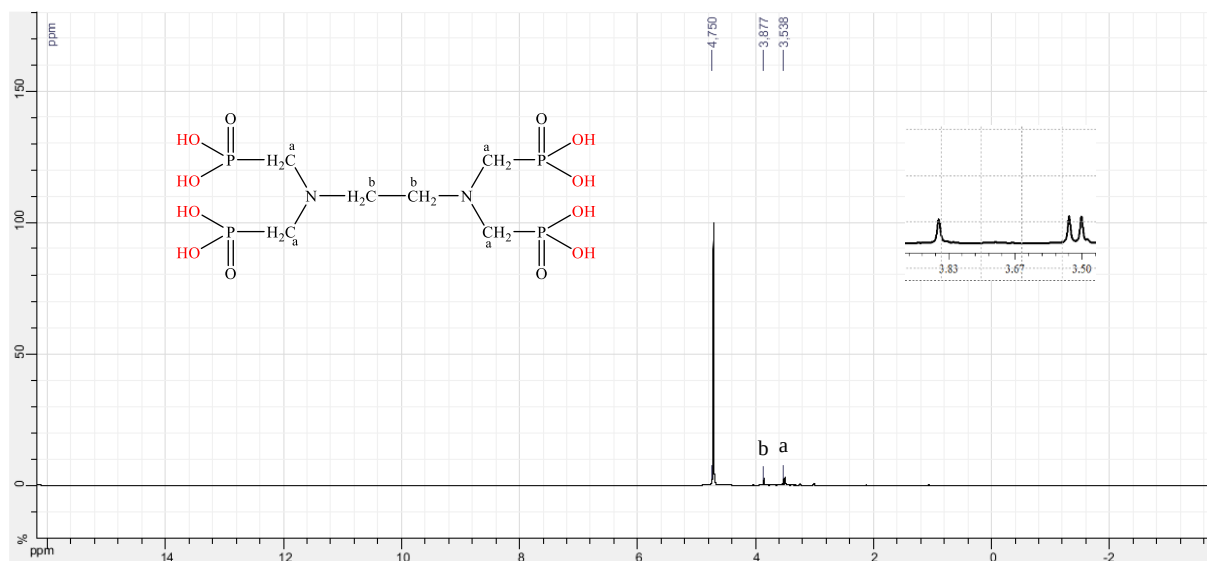
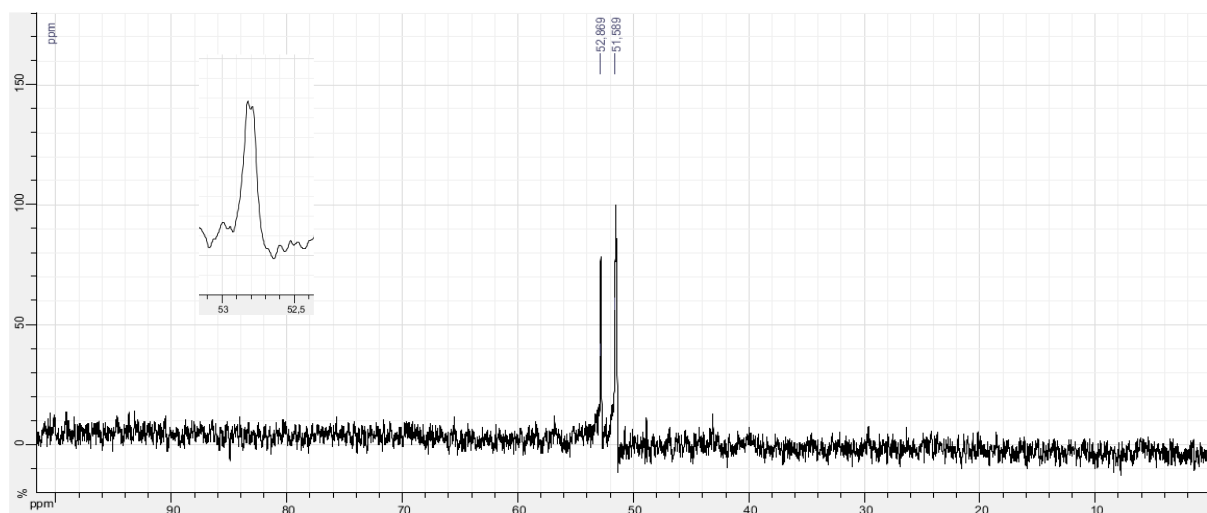
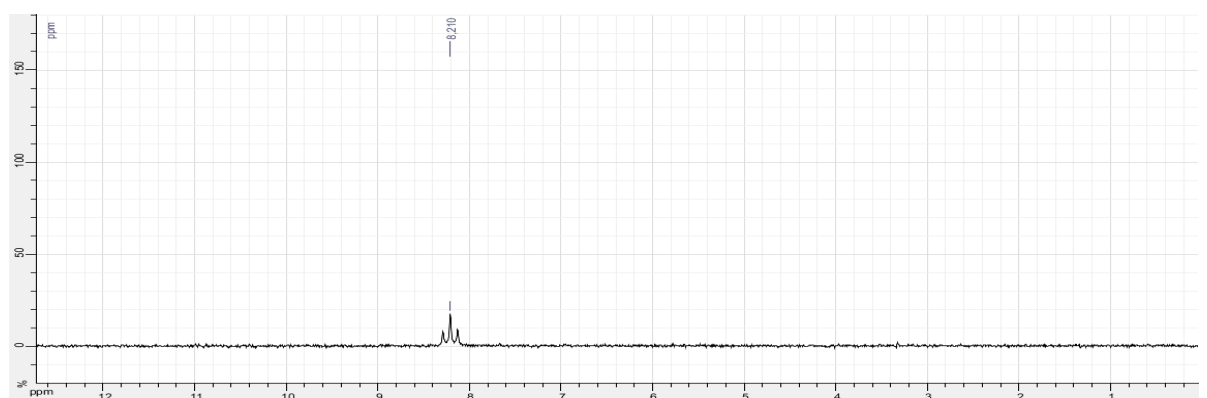
Le spectre RMN ^1H de N-PDMPA (Figure III. 8-a) est caractérisé par les déplacements chimiques suivants : un triplet à 0.71 ppm correspondant au 3H de carbone (a) ($J_{\text{H-H}} = 7.22$ Hz), un multiple à 1.51 ppm des deux protons du carbone (b) et l'autre à 3.20 ppm correspondant aux protons de carbone (c). Un doublet vers 3,85 ppm correspondant au proton du méthylène couplé au phosphore ($J_{\text{H-P}} = 12.6$ Hz), le signal des protons des groupements – OH acides est situé à 4.76 ppm.

Le spectre RMN du ^{13}C (Figure III. 8-b) montre un signal à 9.72 ppm correspondant au carbone (a), un signal à 16.75 ppm du carbone (b). Les deux carbones des groupements méthylène résonnent respectivement à 49.95 et 51.7 ppm, dans les deux signaux on observe le couplage entre le carbone et le phosphore ($J_{\text{C-P}} = 4.4$ Hz), le carbone (c) résonne à 58.79 ppm pour.

Le spectre RMN ^{31}P (Figure III. 8-c) présente un seul signal à 8.367 ppm correspondant au phosphore de l'acide N-PDMPA, ce signal est sous forme d'un triplet à cause du couplage du phosphore avec les hydrogènes de – CH_2 avec une constante de couplage $J_{\text{P-H}} = 12.7$ Hz.

c- RMN de l'acide EDTMP

La structure attendue pour l'acide EDTMP est confirmée par RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P , les spectres caractéristiques correspondants sont illustrés par la figure III. 9.

(a) Spectre RMN ^1H dans D_2O .(b) Spectre RMN ^{13}C dans D_2O .(c) Spectre RMN ^{31}P dans DMSO-d_6 .**Figure III.9:** Spectre RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P de EDTMP.

Le spectre RMN ^1H de l'EDTMP confirme la structure de l'acide phosphonique visé par la synthèse, il représente les déplacements chimiques suivants: un doublet présente la résonance des protons isochrones des groupements méthylènes (a) liés aux atomes de phosphore à 3.55 ppm ($J_{\text{H-P}}=12.6$ Hz), un signal situé à 3.86 ppm présente la résonance des protons isochrones des groupements méthylènes (b) liés aux atomes d'azote et un signal situé à 4.79 ppm correspondant à la résonance des huit protons isochrones des groupements - OH de l'acide phosphonique.

L'analyse RMN ^{13}C de l'acide l'EDTMP, révèle un signal situé vers 51,63 ppm, correspondant aux deux carbones des groupements méthylènes (a) liés aux atomes d'azote, alors que les quatre carbones isochrones (b) liés aux atomes de phosphore, résonnent sous forme d'un doublet situé à 52.73 ppm ($J_{\text{C-P}} = 4.3$ Hz).

Le spectre RMN ^{31}P de l'acide l'EDTMP, présente un triplet caractéristique des quatre atomes de phosphore vers 8.21 ppm avec une constante de couplage $J_{\text{P-H}}=12.6$ Hz.

III.7. Conclusion

Nous avons synthétisé trois acides α -aminomethylenephosphoniques, à partir d'une réaction classique entre une amine, acide phosphoreux et le formaldéhyde, avec un très bon rendement.

La spectrophotométrie UV-Vis a révélé des déplacements bathochromes significatifs des bandes d'absorptions caractéristiques des produits synthétisés par rapport aux produits de départ, ce qui indique, la présence de nouveaux groupements sur les structures des produits obtenus.

Les spectres infrarouges ATR-FTIR des composés synthétisés révèlent clairement la disparition des pics caractéristiques de l'amine primaire – NH_2 des produits de départ et le pic caractéristique de groupement carbonyle $\text{C} = \text{O}$ du formaldéhyde. Les spectres ATR-FTIR révèlent également l'apparition des pics caractéristiques des liaisons C-P , P=O et P-OH .

Les spectres RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P révèlent les groupements fonctionnels attendus sur les structures proposées ce qui confirme sans ambiguïté l'obtention des produits ciblés dans ce travail.

Références bibliographiques

- [1] R. T. Claunch, The syntheses and spectral properties of diethyl α -aminoalkylphosphonates, diethyl α -aminoalkylphosphonate hydrochlorides and α -aminoalkylphosphonic acids. The aluminum-amalgam reduction and spectral properties of oximes of diethyl acylphosphonates. Master of Science, Vanderbilt University, Nashville, Tennessee 1960.
- [2] (a) M. I. Kabachnik, T. Y. Medved, New method for preparation of α -aminophosphonic acids, Dokl. Akad. Nauk. SSSR 83 (1952) 689-692.
- (b) M. I. Kabachnik, T. Y. Medved, New method for the synthesis of 1-aminoalkylphosphonic acids communication 1,” Bull Acad Sci USSR 2: (1953)769–777.
- (c) T. Medved, M. I. Kabachnik, New method for the synthesis of 1-aminoalkyl-phosphonic and phosphinic acids Communication 4. Synthesis of (1-aminoalkyl)phenylphosphinic acids, Bull Acad. Sci USSR 3 (6) (1954) 893–900.
- (d) E.K. Fields, The synthesis of esters of substituted aminophosphonic acids, J Am Chem. Soc 74 (1952) 1528–1531.
- [3] K. Moedritzer, R.R. Irani, The direct synthesis of α -aminomethylphosphonic acids. Mannich-type reactions with orthophosphorous acid, J. Org. Chem. 31 (1966) 1603–1607.
- [4] A. Vioux, H. Mutin, J. Le Bideau, D. Leclercq, Organic/Inorganic Hybrid Materials. Mat. Res. Soc. Symp. Proc. 628 (2000) CC1.4.1-CC1.4.12.
- [5] M. Blanchard-Desce, Chimie organique expérimentale. Premier et deuxième cycles Broché, Editions Hermann, **1997**.
- [6] R.M. Silverstein, G.C. Basler, T.C. Morill, Identification spectrométrique de composés organique, Paris Bruxelles, **1998**.

Chapitre IV
Activité biologique et
pharmaceutique

Ce chapitre est subdivisé en deux parties, sa première partie est consacrée à l'étude de l'activité biologique y compris l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne ; Nous présentons également les résultats de l'activité hémolytique *in-vitro* pour les trois acides α -aminophosphoniques synthétisés.

Dans la seconde partie on donne les paramètres de chimie quantiques et la carte de potentiel électrostatique moléculaire (ESP) de ces acides.

IV.1. Évaluation de l'activité antioxydante

La plupart des méthodes de mesure de l'activité antioxydante sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux libres. Ce sont principalement des méthodes dites "d'inhibition " ou "piégeage" dans lesquelles une espèce chimique capable de générer des radicaux libres est utilisée avec une substance capable de détecter ces espèces. Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la variété des radicaux libre, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi, nous n'avons pas utilisé une seule méthode pour évaluer l'activité antioxydante de nos produits. L'un des objectifs intéressants de ce travail de thèse est l'évaluation de l'activité antioxydante des composés synthétisés par les méthodes classiques et électrochimiques.

IV.1.1. Activité de piégeage de radical DPPH

L'activité antioxydante des produits vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical, pour cela nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-Vis pour mesurer les absorbances des échantillons à $\lambda = 517$ nm, les résultats sont regroupés dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1 : Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda=517$ nm pour les molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et le standard BHT.

<i>C (μg/mL)</i>	<i>Moyenne d'absorbance</i>			<i>C (μg/ml)</i>	<i>Moyenne d'absorbance</i>
	<i>N-EDMPA</i>	<i>N-PDMPA</i>	<i>EDTMP</i>		<i>BHT</i>
25	0.9205	0.8707	1.0078	10	0.9946
50	0.8417	0.8104	0.9154	20	0.8175
100	0.6661	0.6022	0.812	30	0.7048
150	0.5894	0.5166	0.726	40	0.6476
200	0.5087	0.4649	0.6603	50	0.5832
250	0.4784	0.4388	0.6052		

Pour chaque test, l'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation (II. 2).

$$\text{APR}_{\text{DPPH}} \% = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100$$

Les résultats obtenus, permettent de tracer les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des molécules synthétisés $I\% = f(C)$ (figures IV. 1).

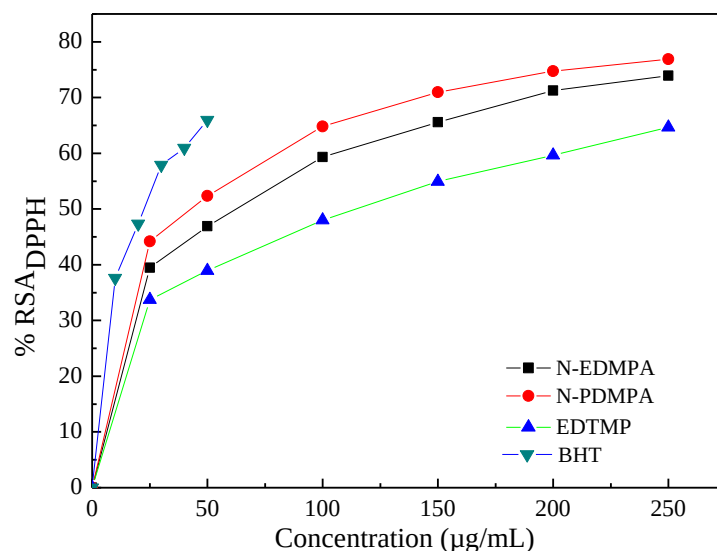


Figure. IV. 1 : Activité de piégeage radicalaire de N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT avec différentes concentrations.

Cette figure montre que tous les produits testés présentent une augmentation progressive de l'activité avec une augmentation de la concentration.

Pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire des composés (N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP) vis-à-vis de radicale DPPH, les résultats des tests ont été exprimés en IC_{50} . Cette valeur a été déterminée graphiquement à partir des droites qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des composés étudiés, et comparée avec celle d'antioxydant standard (BHT), les IC_{50} de chaque produit étudié et celle du BHT ont été montrés dans la figure IV.2.

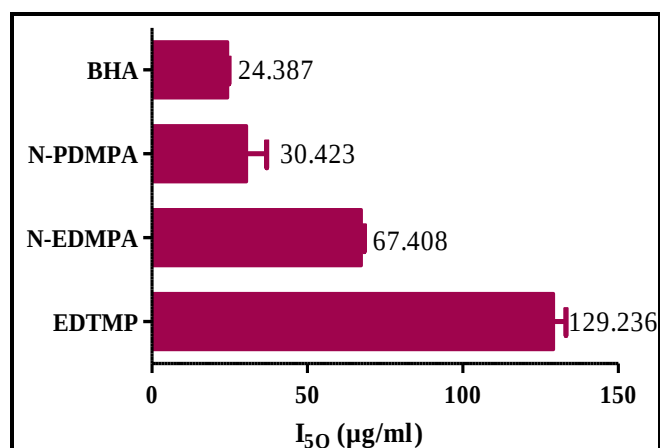


Figure. IV.2: IC_{50} de N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT, (valeur moyenne $\pm$ S.D pour $n=3$).

La valeur IC_{50} inférieure d'un échantillon prouve l'activité piégeant des radicaux libres plus élevée et indique qu'une plus petite quantité est suffisante pour diminuer la concentration de DPPH de 50%.

L'acide N-PDMPA représente le IC_{50} le plus faible de 30.423 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ce qui traduit par un pouvoir antiradicalaire le plus puissant, suivi de N-EDMPA avec un $IC_{50} = 67.408 \mu\text{g} / \text{m}$. L'EDTMP a un IC_{50} le plus élevé ($IC_{50} = 129.236 \mu\text{g} / \text{mL}$) ce qui correspond à la capacité antioxydante la plus faible.

L'antioxydant standard, le BHT est utilisé pour comparer les résultats, il a montré une activité antiradicalaire très puissante avec un IC_{50} de l'ordre de 24.387 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

IV.1.2. Méthode de blanchissement du β - carotène

Le pouvoir de N-EDMPA, N-PDMPA et d'EDTMP a inhibé la peroxydation des lipides a été évalué à l'aide du test de blanchiment β -carotène / acide linoléïque.

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux libres peroxydes du fait de l'abstraction de l'atome d'hydrogène des groupes méthylène diallyliques de l'acide linoléique. Les radicaux libres résultant attaquent le β -carotène hautement insaturé, entraînant son oxydation et par conséquent une décoloration (disparition de la couleur orange) rapide. Cette diminution de la coloration correspond à une diminution de l'absorbance à 470 nm [1].

La présence d'un antioxydant pourrait inhiber l'oxydation du β -carotène, cette inhibition est due probablement, soit à l'inhibition de l'auto-oxydation de l'acide linoléique ou au piégeage des radicaux peroxydes formés durant leur oxydation [2].

Cette méthode est intéressante car le β -carotène est un composé physiologiquement important à forte activité biologique [3].

La cinétique du blanchissement du β -carotène en présence et absence des acides α -aminophosphoniques, BHT et l'antioxydant naturel (vitamine C) est suivie par un spectrophotomètre UV-Vis. Les absorbances obtenues pour chaque test sont portés dans le tableau IV.2.

Tableau IV.2: *Variation de l'absorption des produits étudiés en fonction du temps, mesurée à $\lambda = 470$ nm.*

Temps (h)	N-EDMPA	N-PDMPA	EDTMP	BHT	Vit C	Méthanol	H₂O
0	0.808	0.819	0.802	1.121	1.051	1.024	1.014
1	0.717	0.736	0.791	1.098	0.514	0.934	0.938
2	0.666	0.722	0.720	1.095	0.377	0.864	0.865
4	0.622	0.635	0.718	1.087	0.217	0.769	0.755
6	0.590	0.590	0.677	1.084	0.157	0.654	0.649
24	0.255	0.322	0.592	1.070	0.085	0.222	0.217
48	0.105	0.141	0.514	1.068	0.060	0.109	0.130

Les résultats de l'étude cinétique, Absorbance = f (temps) de différentes molécules sont représentés graphiquement par la figure IV.3:

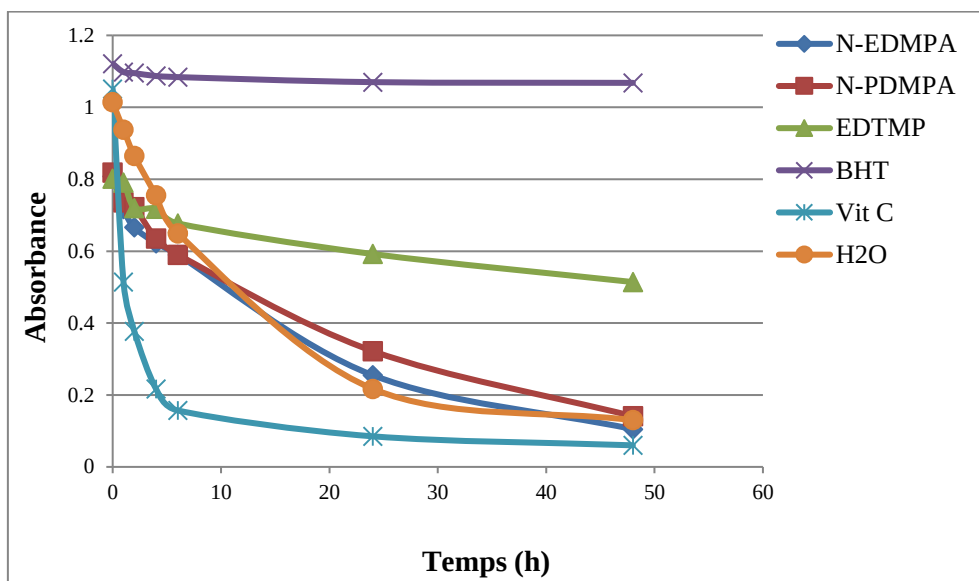


Figure IV. 3: *Activité antioxydante des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP, BHT, Vit C et du contrôle négatif dans le test du blanchissement de β -carotène.*

En présence de l'antioxydant BHT, les absorbances de la solution de β -carotène restent stables durant toute la période d'incubation. Les acides synthétisés ont montré une activité antioxydante remarquable. L'échantillon de contrôle négatif s'oxyde le plus rapidement.

L'activité antioxydante (AA%) des acides α -aminophosphoniques synthétisés a été calculé après 24 h selon l'équation II.3, puis on a effectué une étude comparative entre leurs activités (Figure IV.4).

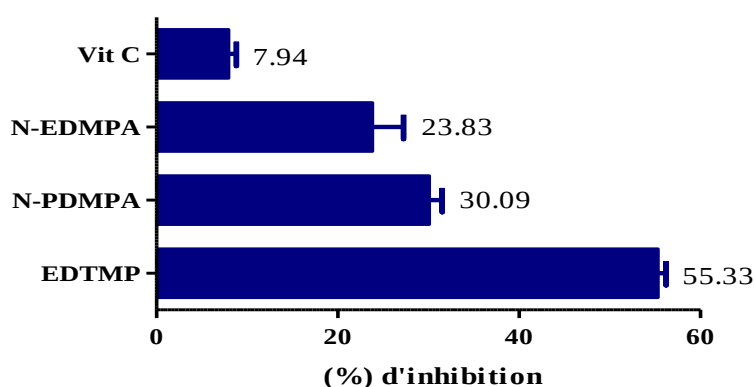


Figure IV. 4: *Activité antioxydante (AA%) déterminée après 24 h, pour les molécules testées : N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et Vit C (valeur moyenne $\pm$ S.D pour $n=3$).*

Après un temps de réaction de 24 h, il a été constaté que la molécule EDTMP présente l'activité antioxydante la plus élevée avec un $AA\% = 55.33 \pm 0.89\%$, suivi de N-PDMPA et

ensuite de N-EDMPA avec des valeurs de $30.09 \pm 1.42\%$ et $23.83 \pm 3.4\%$, respectivement; par contre, la vitamine C présentait un AA% négligeable (7.94 ± 0.89). Ces résultats permettent de classer l'activité antioxydante des produits étudiés dans l'ordre croissant suivant : Vitamine C < N-EDMPA < N-PDMPA < EDTMP

La plus grande efficacité du BHT dans la prévention du blanchiment du β -carotène peut être attribuée à leur plus grande solubilité dans le système d'acide linoléique. Par conséquent, les capacités de blanchiment au β -carotène des acides synthétisés et de l'acide ascorbique étant donné qu'elles sont solubles dans l'eau.

IV.1.3. La réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

Des études antérieures ont montré que la capacité de donation d'électrons dans une réaction d'oxydoréduction peut être aussi utilisée dans la mesure de l'activité antioxydante d'un composé [4, 5], cette capacité de donation d'électrons est appelée pouvoir réducteur.

Dans cette étude, le pouvoir réducteur des acides α -aminophosphoniques est mesuré par la réduction directe de Fe^{3+} en Fe^{2+} déterminée par la détection spectrophotométrique du complexe $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ ayant une forte absorption à 700 nm. Dans cette technique, la couleur jaune de la solution change au vert-bleu selon le pouvoir réducteur de l'échantillon testé. Une absorbance élevée indique un pouvoir réducteur élevé [6].

La lecture des absorbances des solutions préparées a permis de tracer les courbes : Absorption = f (concentrations), présentées sur la figure IV.5.

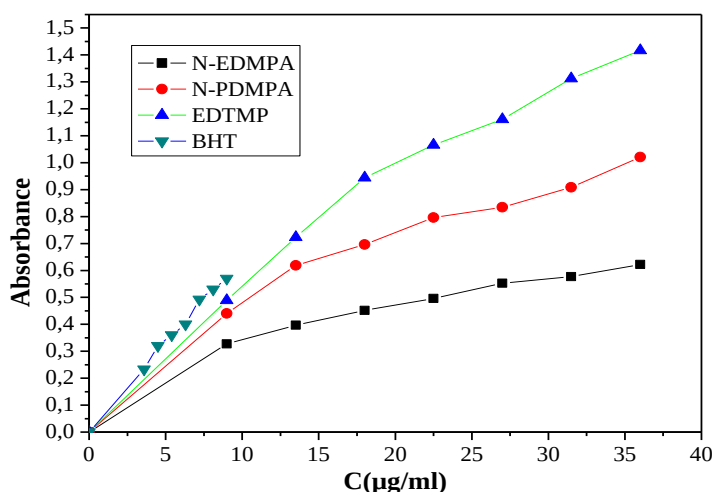


Figure IV. 5: Variation de l'absorbance des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et du standard BHT à différentes concentrations.

Nous remarquons d'après cette représentation graphique, que les acides N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP possèdent un pouvoir réducteur proportionnel à la concentration.

Les courbes de la figure IV.5 ont été exploitées pour calculer les valeurs EC_{50} des produits synthétisés et comparé avec EC_{50} de BHT utilisé comme un standard (Tableau IV.3). Par définition, EC_{50} est la concentration effective à laquelle l'absorbance de 0.5 était obtenue.

Tableau IV.3 : Concentration effective EC_{50} des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et de BHT (valeurs moyenne $\pm$ S.D pour $n=3$).

Produit	EC_{50} ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
N-EDMPA	$24.32 \pm 0,495$
N-PDMPA	$12.92 \pm 0,714$
EDTMP	$9.85 \pm 1,217$
BHT	$7.65 \pm 0,028$

Les valeurs EC_{50} , montrent que la capacité la plus élevée des acides synthétisés est obtenue pour l'acide EDTMP ($9.85 \pm 1,217 \mu\text{g} / \text{mL}$), suivi de N-PDMPA, alors que N-EDMPA a présenté un pouvoir réducteur inférieur, elle suit donc la séquence suivante

$$\text{N-EDMPA} < \text{N-PDMPA} < \text{EDTMP} < \text{BHT}$$

Ces valeurs indiquent que les molécules EDTMP et N-PDMPA possèdent des capacités réductrices très fortes et comparables à celle du BHT. Cela démontre leurs propriétés de donation d'électrons et par conséquent leur capacité à neutraliser les radicaux libres.

IV.1.4. Méthode de la voltammétrie cyclique (VC)

L'application de la voltammétrie cyclique (VC), exige que les produits testés doivent être non actifs dans la plage de potentiel du couple $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$ afin d'éviter les interférences ou les interprétations complexes des voltamogrammes. Pour cette raison, avant d'étudier le piégeage radicalaire de composés synthétisés vis-à-vis du radical superoxyde, nous avons étudié l'électroactivité des molécules concernées dans les mêmes conditions que celles prévues pour effectuer cette étude, ceci nous a permis de confirmer que les acides : N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP sont effectivement inactives dans la plage de potentiel du couple $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$.

IV.1.4.1. Génération électrochimique et comportement voltamétrique du radical superoxyde

Le voltamogramme cyclique a tout d'abord été enregistré en l'absence des composés testés pour déterminer le courant de pic anodique I_{pa}^O , cette valeur correspond à la concentration de $O_2^{\bullet-}$ à la surface de l'électrode.

Le radical $O_2^{\bullet-}$ a été généré selon la réaction de réduction (i) (Figure IV. 6, pic C). La présence de ce radical est facilement détectée par son courant anodique mesuré lors du balayage inverse selon la réaction d'oxydation (Figure IV.6, pic A).

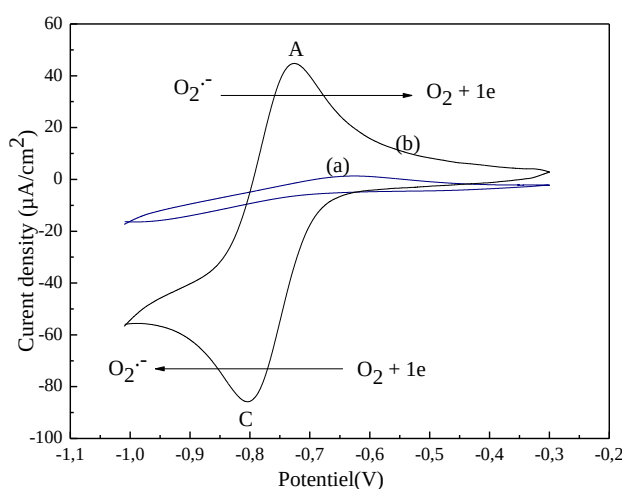


Figure IV.6: Voltamogrammes cycliques de (a) DMSO - Bu_4NBF_4 , 0.1 M (b) $O_2^{\bullet-}$ en milieu DMSO - Bu_4NBF_4 0.1 M avec une vitesse de balayage, $v = 20 \text{ mV/s}$:

- Carbone vitreux (GC) comme électrode de travail.
- Plaque de platine (1.28 cm^2) comme contre-électrode.
- L'électrode au calomel saturée (SCE) comme référence.

Le voltamogramme cyclique du radical anion superoxyde montre un processus réversible avec des pics d'oxydation et de réduction avec $\Delta E_p = 70 \text{ mV}$, ce qui est en bon accord avec les travaux antérieurs [7].

IV.1.4.2. Comportement électrochimique du radical superoxyde en présence des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et de BHT

Le voltamogramme cyclique du radical anion superoxyde en présence de N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP a montré une diminution du courant anodique en fonction de l'augmentation de la concentration (augmentation du volume) de ces molécules, alors que l'intensité du courant cathodique n'est pas significativement modifiée, figure IV.7.

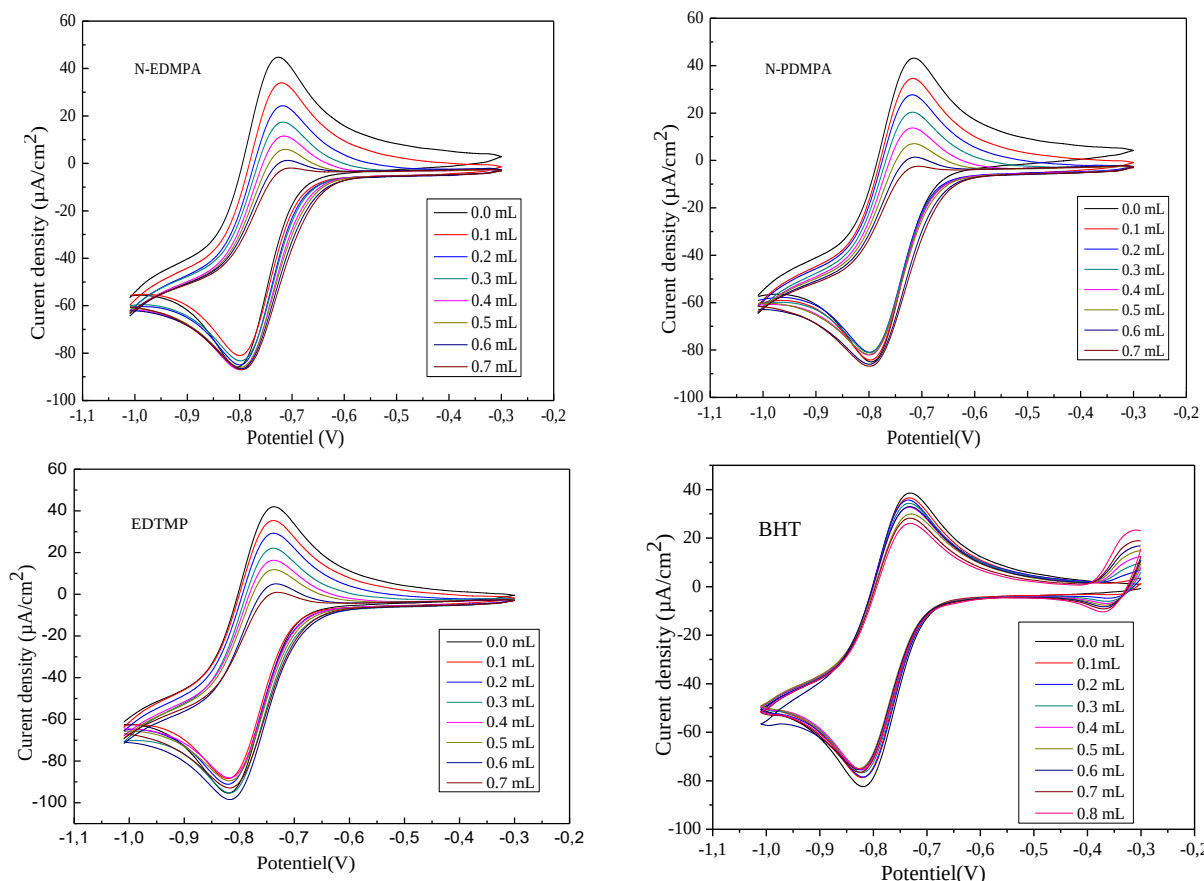
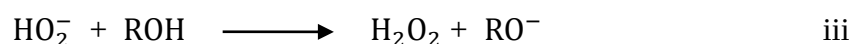
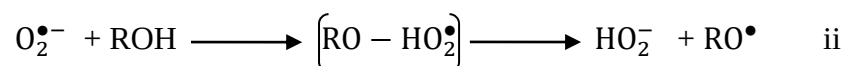


Figure IV.7 : Evolution des voltammogrammes cycliques de $O_2^{\bullet-}$ enregistrés en présence de différents volumes de N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT en milieu (DMSO - Bu₄NBF₄; 0.1 M) une vitesse de balayage = 20 mV / s:

- Carbone vitreux (GC) comme électrode de travail
- Plaque de platine (1.28 cm²) comme contre-électrode
- L'électrode au calomel saturée (SCE) comme référence

La diminution du courant de pic anodique du radical anionique superoxyde suggère que les produits testés réagissent de manière irréversible avec ce radical et diminuent sa concentration autour de la surface de l'électrode. Aucun changement dans le courant de pic cathodique n'a été observé, ceci, indique l'absence d'interaction entre les composés testés et l'oxygène moléculaire.

Les changements de la forme du voltammogramme cyclique observés, sont identiques dans les trois composés, ce comportement est analogue à celui rapporté dans la littérature [8, 9]. Sur la base de cette analogie, le mécanisme proposé est donc l'abstraction d'atome H du composé par le radical superoxyde et peut être représenté par le mécanisme suivi:



Ce mécanisme est un transfert d'électrons réversible suivi d'une réaction chimique irréversible (transfert d'atomes d'hydrogène). Le radical anion superoxyde formé électrochimiquement, réagit avec l'antioxydant et forme une espèce électro-inactive sous forme d'un radical et une base conjuguée du peroxyde d'hydrogène, d'autre part, la base conjuguée du peroxyde d'hydrogène n'est pas stable et réagit avec l'antioxydant en prenant un proton pour former un produit H_2O_2 relativement stable. Le $\text{RO}^{\bullet}$ produit est supposé avoir une très faible toxicité en raison de sa forte probabilité de dimérisation.

IV.1.4.3. L'activité de piégeage et la détermination des valeurs IC_{50}

L'activité de piégeage de l'antioxydant a été évaluée par sa IC_{50} calculée à partir de l'équation linéaire (Le pourcentage d'activité de piégeage des radicaux par rapport à la concentration du composé). D'après le tableau IV.4, on trouve que la plus faible valeur de IC_{50} ($57.635 \mu\text{g} / \text{mL}$) a été présentée par l'acide N-PDMPA ceci indique que ce produit possède l'activité antioxydante la plus élevée, tandis que la plus grande valeur de IC_{50} ($87.55 \mu\text{g} / \text{mL}$) a été détectée dans l'EDTMP.

IV.1.4.3. Paramètres thermodynamiques

La faisabilité thermodynamique du piégeage des radicaux par les acides α -aminophosphoniques synthétisés a été estimée en termes de constante de liaison (K_b) et d'énergie libre de Gibbs standard (ΔG°). Les valeurs K_b sont déterminées en utilisant les courbes de la figure IV. 8 tracées à partir de l'équation suivante [10].

$$\log \left(\frac{1}{C_{\text{test}}} \right) = \log K_b + \log \left(\frac{I_{pa}}{I_{pa}^0 - I_{pa}} \right) \quad (C_{\text{test}} \text{ est la concentration des composés testés}).$$

D'après le tableau IV.4, il apparaît que les valeurs des constantes K_b des acides α -aminophosphoniques testés sont élevées, ce qui confirme la forte interaction des composés *N-EDMPA*, *N-PDMPA* et *EDTMP* avec le radical $\text{O}_2^{\bullet-}$.

ΔG° peut être calculé à partir de K_b en utilisant l'équation: $\Delta G^\circ = -RT \ln (C_{\text{solvant}} K_b)$ où R est la constante des gaz parfaits ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$). T (K) la température absolue.

C_{solvant} est la concentration molaire d'un solvant, dans notre cas le DMSO.

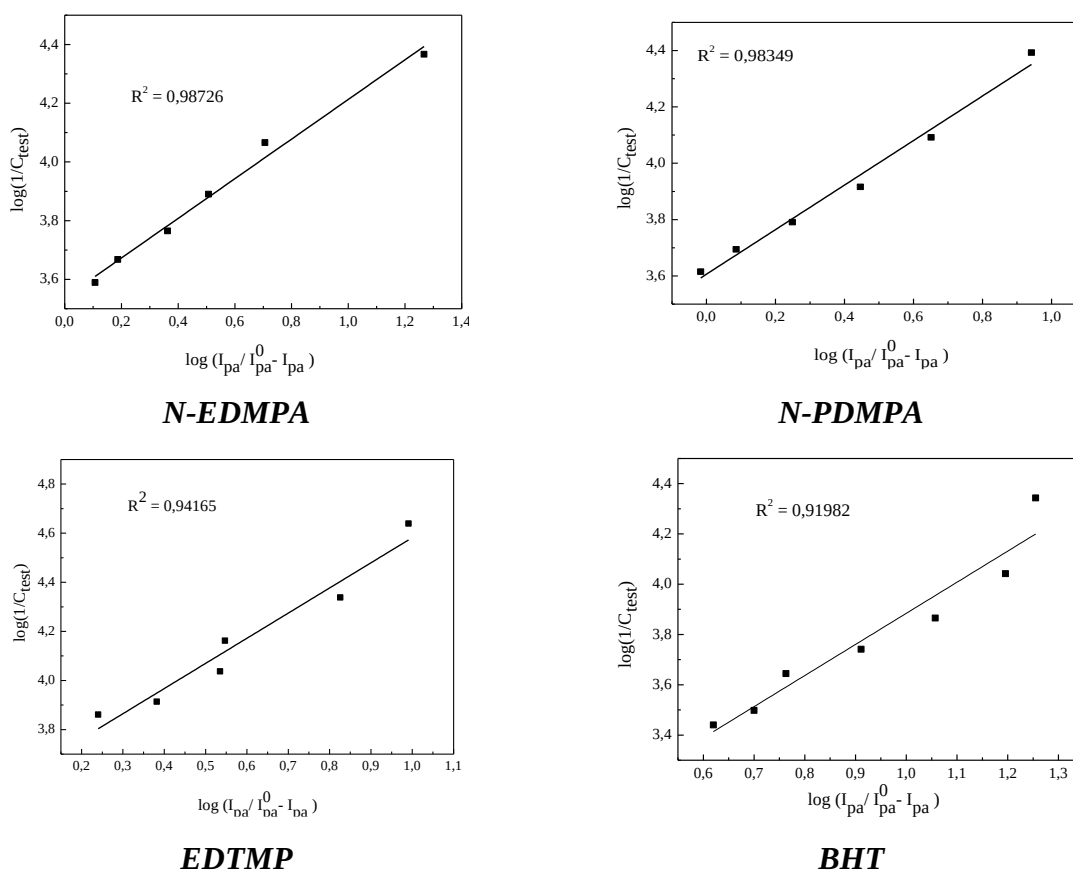


Figure IV. 8: Les courbes $\log(I_{pa}/I_{pa}^0 - I_{pa}) = f(\log 1/C_{test})$ des composés N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT.

Les valeurs négatives de ΔG° (Tableau IV.4) indiquent la spontanéité de la réaction antiradicalaire, mais aussi la stabilité des espèces formées, ce qui considéré comme une preuve évidente de l'efficacité des composés testés.

Tableau IV.4 : IC_{50} , K_b et ΔG° des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP et BHT obtenues par les tests d'inhibition des anions superoxyde.

Produits	$IC_{50}(\mu g/ml)$	$K_b (l/mol)$	$\Delta G^\circ(kJ/mol)$
N-EDMPA	65.668	3451.437	-26.736
N-PDMPA	57.635	4036.454	-27.212
EDTMP	87.55	3162.27	-26.519
BHT	180.9	443.53	-21.652

IV.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire (Inhibition de la dénaturation des protéines).

Il est bien connu que la dénaturation des protéines tissulaires conduit à des maladies inflammatoires. Un composé qui peut empêcher la dénaturation des protéines, serait utile pour le développement de médicaments [11].

Dans la présente étude, l'effet anti-inflammatoire *in vitro* des trois molécules (acides α -aminophosphoniques) synthétisées, est évalué contre la dénaturation de l'albumine, les résultats obtenus pour chaque test, sont regroupés dans le tableau IV.5.

Tableau IV.5: *Activité anti-inflammatoire des molécules N-EDMPA, N-PDMPA, EDTMP, et de l'aspirine exprimé en %.*

Température	C ($\mu\text{g/mL}$)	Activité anti-inflammatoire (%)			
		N-EDMPA	N-PDMPA	EDTMP	Aspirine
60°C	952	94.7	95.7	95.8	
	476	94.5	94.5	95.6	
	238	93.5	94.3	95.4	
65°C	952	96.1	95.3	95.6	
	476	95.4	94.5	95.4	
	238	95.1	94.7	95.8	
72°C	952	95.9	95.8	96.2	90.6
	476	94.8	94.9	94.6	77.25
	238	16.6	31.8	63.2	60.9

L'effet inhibiteur des acides synthétisés et de l'acide acétylsalicylique (Aspirine) sur la dénaturation des protéines, a été exprimé en pourcentage l'histogramme de la figure IV. 9:

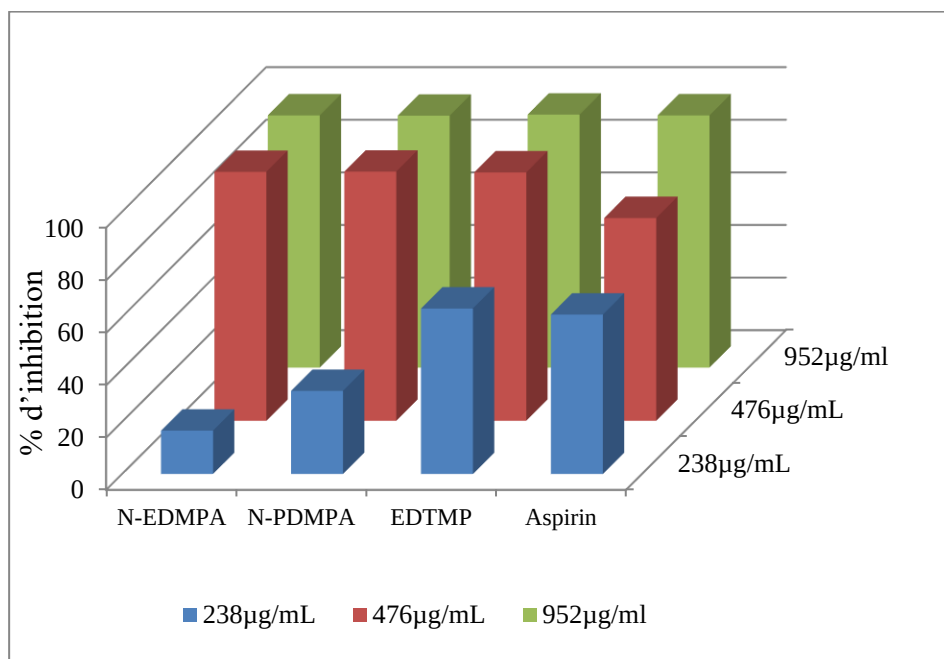


Figure IV. 9: Histogramme du pourcentage de l'activité anti-inflammatoire des acides α -aminophosphoniques et de l'aspirine à $T = 72^\circ\text{C}$.

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leur structure tertiaire et leur structure secondaire sous l'effet d'un stress externe ou d'un composé tel qu'un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou de la chaleur [12]. Le mécanisme de la dénaturation peut impliquer une altération de la liaison électrostatique, hydrogène, hydrophobe ou disulfure [13].

La plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées. La dénaturation des protéines est l'une des causes bien définies de l'inflammation [12].

On remarque d'après les résultats qu'aux températures ($T = 60$ et 65°C), où la dénaturation des protéines n'a pas atteint son maximum, les trois acides montrent une inhibition maximale entre (96-93%) pour les trois concentrations (952, 476 et 238 $\mu\text{g/mL}$). Pour la température $T = 72^\circ\text{C}$ et aux concentrations 952 $\mu\text{g/mL}$ et 476 $\mu\text{g/mL}$ les acides α -aminophosphoniques présentent une activité inhibitrice de 95%-94% sur la dénaturation des protéines. En comparaison avec l'anti-inflammatoire standard, les molécules synthétisées ont donné le même pourcentage d'inhibition pour les deux premières concentrations, alors que pour la concentration 238 $\mu\text{g/mL}$, le taux d'inhibition était comme suit: EDTMP (63.2%), N-PDMPA (31.8%) et N-EDMPA présente le pourcentage le plus faible (16.6%).

IV.3. Evaluation des propriétés antibactériennes

L'utilisation abusive des antibiotiques a induit le phénomène de résistance des bactéries infectieuses aux antibiotiques. Ce problème que rencontre la médecine actuelle, a relancé la recherche vers d'autres agents antimicrobiens.

Au cours des tests effectués dans ce travail, l'activité antibactérienne des acides synthétisés a été déterminée à trois doses différentes (2.5, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$) contre quatre types des bactéries causant pour la plupart des infections urinaires et des maladies nosocomiales (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) en utilisant la méthode de diffusion de disque sur milieu de Mueller-Hinton gélosé.

Cette méthode est utilisée pour signaler la présence de l'activité antibactérienne par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné par les composés testés, les résultats ont été comparés avec l'antibiotique standard (gentamicines) qui a été utilisés comme contrôle positif et le DMSO utilisées comme contrôle négatif.

Dans notre travail les disques d'antibiotiques gentamicines (GEN 10 μg) ont été sélectionnés comme contrôle positif, ce choix est dû à la sensibilité des souches choisies pour cet antibiotique et en raison de leur spectre d'action assez large et de leur utilisation fréquente en milieu hospitalier pour le traitement des infections causées par la plupart des germes de notre étude et selon aussi leur disponibilité.

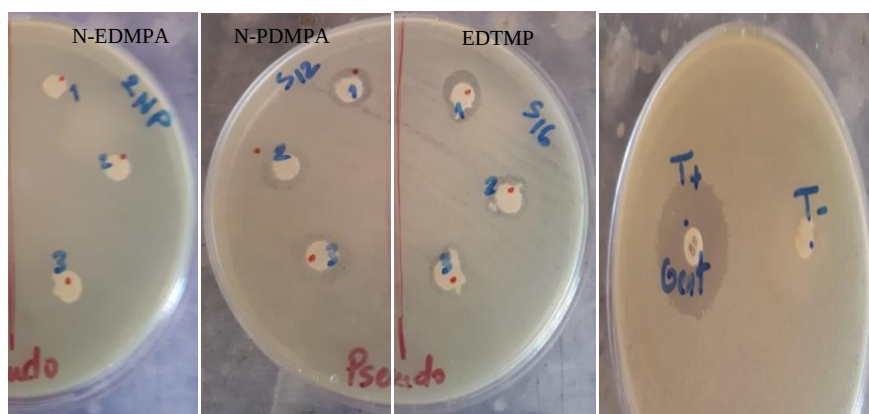


Figure IV.10 : Effet inhibiteur des acides α -aminophosphoniques et de la gentamicine sur la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*.

Le DMSO n'a aucune zone d'inhibition, c'est-à-dire il n'a pas d'effet significatif, alors que tous les autres composés ont montré une activité inhibitrice plus ou moins importante.

Les résultats de mesures des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne au tour des disques, en présence des molécules N-EMDPA, N-PMDPA, EDTMP et du standard sont rassemblés dans le tableau IV.6.

Tableau IV.6: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne au tour des disques en présence des molécules N-EMDPA, N-PMDPA, EDTMP et du standard.

Souches bactériennes		C (mg /mL)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
			composé			
			N-EMDPA	N-PMDPA	EDTMP	gentamicine
Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	2.5	-	-	10	14
		5	10	10	10	
		10	10	10	10	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.5	-	10	10	18
		5	-	10	10	
		10	-	10	12	
Gram positif	<i>Bacillus subtilis</i>	2.5	-	10	10	31
		5	-	10	10	
		10	-	10	10	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.5	-	-	23	24
		5	-	-	25	
		10	-	-	27	

E. coli : *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*, *B. subtilis* : *Bacillus subtilis*, *S. aureus* : *Staphylococcus aureus*.

Les résultats obtenus indiquent que le micro-organisme le plus sensible à ces acides était *Escherichia coli* Gram négative, dont le diamètre d'inhibition est égal à 10 mm.

Toutes les souches se sont révélées sensibles à la gentamicine avec des diamètres variés. Le plus grand a été enregistré sur *B. subtilis* avec une zone de 31 mm, et le plus petit est de 14 mm enregistré sur *E. coli*.

L'acide N-PDMPA montre une activité inhibitrice faible vis-à-vis de *E. coli*, *P. aeruginosa* et *B. subtilis* et n'a montré aucune activité sur *S. aureus*, tandis que l'acide N-EDMPA à une activité contre *E. coli*, mais qu'il n'a montré aucune activité sur les trois autres souches.

D'autre part, on peut remarquer que l'acide EDTMP possède le plus large spectre d'activité antibactérienne contre les quatre souches de bactéries testées, et présente une meilleure activité vis-à-vis de *S. aureus* avec une zone de 27 mm, ceci est traduit par une activité inhibitrice forte de cette molécule.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un composé à un autre. Cette variabilité des résultats de l'activité biologique des produits synthétisés peut dépendre de ses structures chimiques, ses propriétés physicochimiques et les caractéristiques des membranes plasmiques des bactéries.

On peut conclure, que les molécules synthétisées possèdent toutes une activité antibactérienne contre les souches testées - qui sont des microbes pathogènes - quoique les diamètres des zones d'inhibition soient relativement faibles.

IV.4. Essais de l'activité hémolytique des molécules synthétisées

L'activité hémolytique *in vitro* sur des érythrocytes (globule rouge) humains de différentes concentrations des produits synthétisés a été réalisée selon le protocole expérimental décrit dans les travaux de Malagoli (2007) [14]. L'hémolyse totale a été obtenue avec de l'eau distillée et une hémolyse à 0% avec sérum salé 9%.

Le suivi de l'absorbance à 540 nm qui reflète la concentration d'hémoglobine, permet d'évaluer aisément le pouvoir hémolytique des produits testés. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IV.7.

Tableau IV.7 : Absorbances mesurées en fonction de la concentration pour évaluer l'activité hémolytique *in vitro*.

Concentration (mg/mL)	Molécule			Contrôle
	EDTMP	N-EDMPA	N-PDMPA	
0.0625	0.118	0.13	0.136	1
0.125	0.124	0.134	0.14	
0.25	0.157	0.167	0.194	
0.5	0.271	0.298	0.303	
1	0.33	0.393	0.402	

Le taux d'hémolyse de différentes molécules est calculé en pourcentage (%) par rapport au contrôle selon l'équation II. 6, les résultats obtenus sont illustrés par la figure VI.11. Chaque concentration indique le pourcentage moyen de trois expériences d'hémolyse.

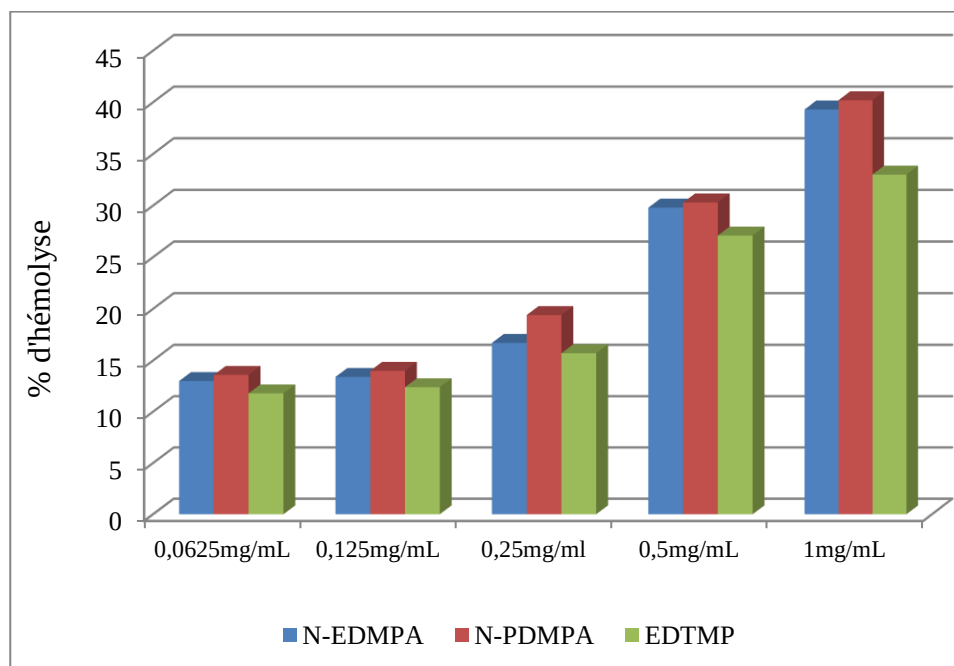


Figure IV.11 : Évolution du taux d'hémolyse dans des tubes contiennent une suspension érythrocytaire en présence des acides α -aminophosphoniques synthétisés.

Les érythrocytes ont été utilisés par un certain nombre de chercheurs comme modèle pour l'étude de l'interaction des médicaments avec les membranes. L'avantage du modèle d'érythrocytes est que le sang est facilement disponible et que les cellules sont faciles à isoler du sang, de plus sa membrane présente des similitudes avec d'autres membranes cellulaires [15].

L'hémolyse est due à la destruction des globules rouges résultant de la lyse de la bicouche lipidique membranaire.

La figure VI.11, montre que les acides α -aminophosphoniques synthétisés possèdent des activités hémolytiques dépendant de la concentration, mais tous les acides ont un effet hémolytique faible sur les globules rouges humains.

Il est possible que l'activité cytotoxique soit non seulement ou pas liée aux propriétés lytiques ou à l'instabilité membranaire induite par les composés, mais à un autre mécanisme [16]. Donc il est très important d'associer toutes les méthodes *in vitro* avec les testes *in vivo* sur des modèles animaux.

IV.5. Calculs de chimie quantique

IV.5.1. Propriétés structurales et électroniques

Les structures moléculaires optimisées par la méthode DFT (théorie de la fonctionnelle de densité), B3LYP / 6-31G (d, p) de la forme la plus stable de N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP sont illustrées par la figure IV.12.

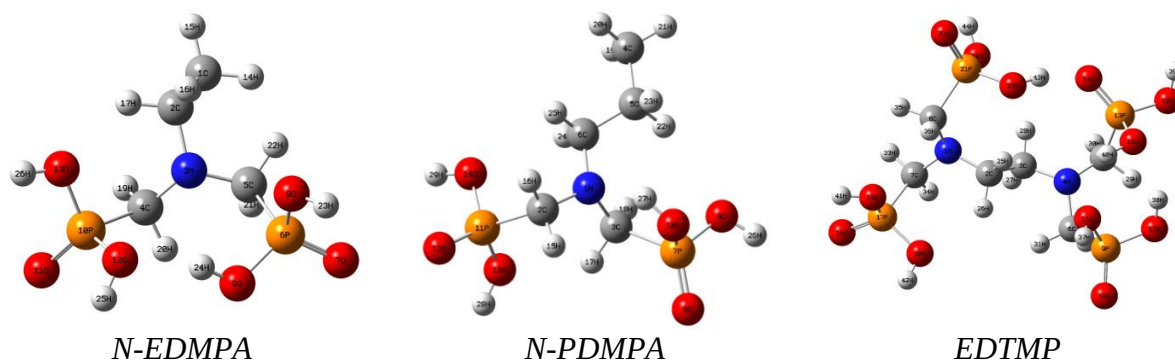


Figure IV.12. Structures moléculaires optimisées par DFT pour les molécules *N-EDMPA*, *N-PDMPA* et *EDTMP*

Les résultats des calculs de la distribution des donneurs d'électrons dans l'orbitale moléculaire occupée la plus élevée (HOMO) et la distribution des accepteurs d'électrons dans l'orbitale moléculaire inoccupée la plus basse (LUMO), sont présentés sur la figure IV. 13.

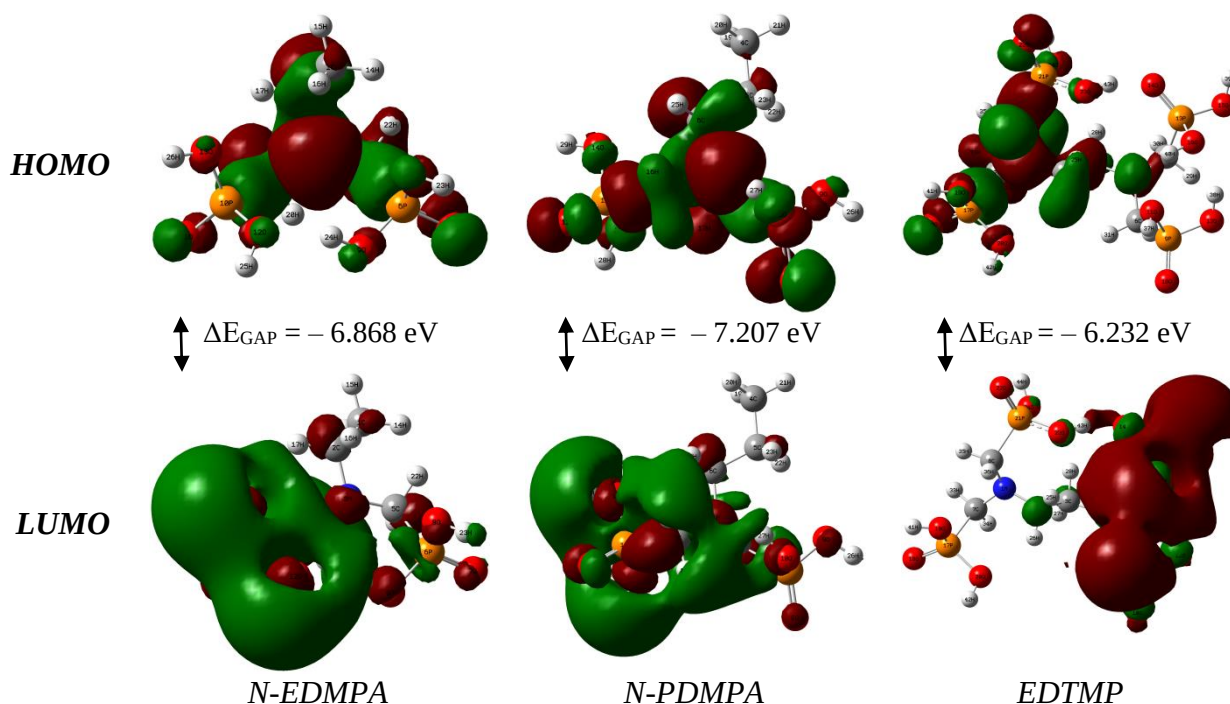


Figure IV.13 : Distribution de la densité électronique totale des orbitales moléculaires à la frontière des molécules *N-EDMPA*, le *N-PDMPA* et l'*EDTMP*.

La molécule caractérisée par la plus grande énergie E_{HOMO} et la plus petite énergie E_{LUMO} est la molécule EDTMP avec $E_{HOMO} = -5.85671$ eV et, $E_{LUMO} = 0.37552$ eV.

L'énergie E_{HOMO} correspond au potentiel d'ionisation (I), alors que l'énergie E_{LUMO} correspond à l'affinité électronique (A). D'autre part, l'écart d'énergie ΔE_{GAP} ($E_{LUMO} - E_{HOMO}$), est l'énergie minimale nécessaire pour exciter un électron dans une molécule et reflète l'activité chimique et l'activité biologique de la molécule. Le plus grand écart énergétique $E_{HOMO} - E_{LUMO}$, indique la molécule la plus dure et la plus stable / la moins réactive. La diminution de l'écart énergétique révèle la bioactivité de la molécule [17].

Le tableau IV.8 récapitule les valeurs obtenues des descripteurs de réactivité chimique des composés étudiés déterminés par des calculs DFT, tels que l'énergie totale (E), la dureté chimique (η), le potentiel chimique électronique (μ) et l'indice global d'électrophilie (ω).

Tableau IV.8: La réactivité chimique globale des molécules *N*-EDMPA, *N*-PDMPA et EDTMP, calculée par B3LYP / 6-31G (d, p).

Paramètres quantiques	<i>N</i>-EDMPA	<i>N</i>-PDMPA	EDTMP
E_{Tot} (eV)	- 36713.80374	-37783.56306	- 71255.34237
E_{HOMO} (eV)	- 6.34461	- 6.59604	- 5.85671
E_{LUMO} (eV)	0.52355	0.611440	0.37552
ΔE_{GAP} (eV)	- 6.86816	- 7.20748	- 6.23223
Energie d'ionisation (I)	6.34461	6.59604	5.85671
Affinité électronique (A)	- 0.52355	- 0.61144	- 0.37552
Electronégativité (χ)	2.91053	2.99230	2.74059
Potentiel chimique (μ)	- 2.91053	- 2.99230	-2.74059
Dureté moléculaire (η)	3.43408	3.60374	3.11611
Douceur moléculaire (S)	0.29112	0.27749	0.32091
Indice d'électrophilie (ω)	1.2334	1.24230	1.20516
Moment dipolaire (Debye)	4.7193	4.9175	2.9445
Log p	- 1.82	- 1. 32	- 4.54

La dureté chimique est associée à la stabilité et la réactivité d'un système chimique, elle mesure la résistance d'une molécule, au changement dans le transfert de la distribution ou de la charge électronique. Plus la dureté de la molécule est importante, plus la molécule est stable et donc moins réactive [18-19].

L'inverse de la dureté est défini comme douceur (S) de la molécule, ce paramètre peut servir comme critère de la stabilité thermodynamique des composés et peut être utilisé pour la prédiction de la réactivité. La molécule plus douce, peut subir un réarrangement plus facile pour la densité de charge et donc elle pourrait être prédite à être plus réactifs [20,21]. L'analyse des résultats portés dans le tableau IV.8, montre que le composé EDTMP est le plus doux, moins stable et plus réactif.

Le potentiel chimique électronique est défini comme la valeur négative de l'électronégativité d'une molécule [22], physiquement, il décrit la tendance de dispersion des électrons à partir d'un système à l'équilibre [18]. Les valeurs de μ calculées pour tous les composés étudiés sont présentées dans le tableau IV.8. Plus le potentiel chimique électronique de la molécule est important, moins elle est stable et plus elle est réactive. La tendance du potentiel chimique électronique suit la séquence suivante :

$$\mu_{\text{EDTMP}} (-2.74059\text{eV}) > \mu_{\text{N-EDMPA}} (-2.91053\text{eV}) \approx \mu_{\text{N-PDMPA}} (-2.99230\text{eV}).$$

Ceci est en bon accord avec les résultats de calculs de la dureté.

Les trois composés sont des molécules polaires, à en juger par leurs moments dipolaires (Tableau IV.8), la molécule la plus polaire est le N-PDMPA.

Le coefficient de partage ($\log P$) d'une substance chimique entre deux phases non miscibles est le rapport des concentrations à l'équilibre du composé dans la phase organique apolaire et la phase aqueuse. $\log P$, est l'un des paramètres largement utilisé dans les études de relations structure-activité quantitatives (QSARs) [23]. Le solvant organique couramment utilisé pour mesurer expérimentalement le coefficient de partage des molécules médicamenteuses est le 1-octanol.

Une valeur positive du $\log P$, ($P > 1$), indique que le composé est lipophile, alors qu'une valeur négative du $\log P$, ($P < 1$) indique que le composé est hydrophile.

A partir des résultats portés dans le tableau IV.8, on peut dire que les trois composés synthétisés sont des molécules hydrophiles et que la molécule EDTMP présente le coefficient de partage ($\log P$) le plus bas (-4.54), donc c'est le composé le plus hydrophile, suivie par N-EDMPA et enfin N-PDMPA.

On peut conclure selon les valeurs calculées de l'énergie totale pour les composés étudiés (Tableau IV.2), que l'EDTMP possède l'énergie totale E_{tot} , la plus basse ce qui

indique que la molécule EDTMP est plus stable que les autres. La stabilité des molécules synthétisées suit la séquence suivante :

$$EDTMP (E_{tot} = -71255.34237 \text{ eV}) > N\text{-}PDMPA (E_{tot} = -37783.56306 \text{ eV}) > N\text{-}EDMPA (E_{tot} = -36713.80374 \text{ eV})$$

Le conformere stable déterminé pour la molécule la plus stable (EDTMP) a été réalisé en utilisant l'analyse conformationnelle. Par conséquent, la surface d'énergie potentielle (PES) a été construite en changeant l'angle dièdre sélectionné N1-C2-C3-N4 de 0° à 180° avec un pas de 10°. D'un autre côté, les paramètres géométriques restants ont été simultanément relâchés.

Le balayage PES obtenu pour l'angle dièdre sélectionné a été présenté par la figure IV.14. En principe, l'énergie potentielle minimale (la géométrie à l'équilibre) est due à la conformation la plus stable, qui est la géométrie à l'équilibre.

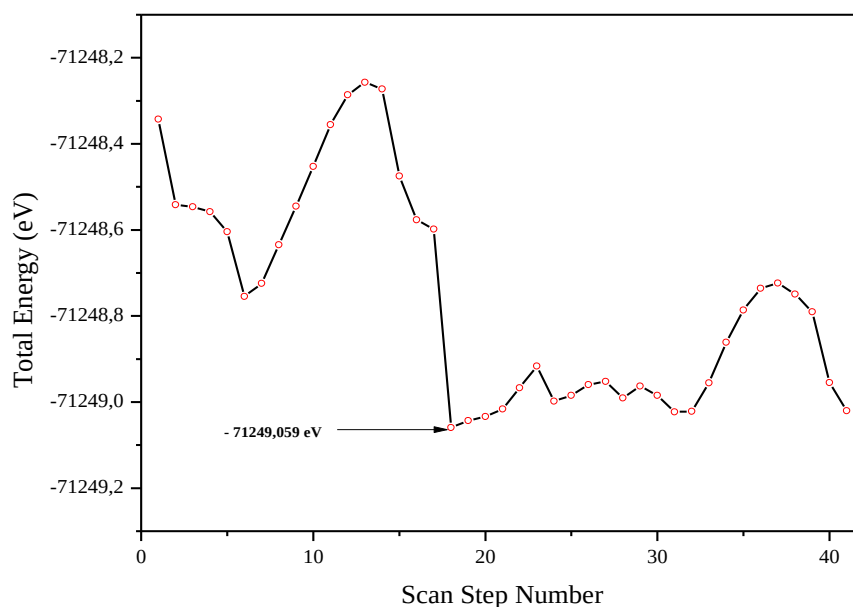


Figure IV.14: Balayage de l'énergie totale de la molécule la plus stable (EDTMP) avec l'angle dièdre sélectionné (N1-C2-C3-N4).

Les résultats de balayage présentés sur la figure IV.14, montrent clairement que la conformation la plus stable est attribuée à un angle de 180.16 ° avec une énergie minimale de -71249.0587 eV.

IV.5.2. Surfaces du potentiel électrostatique moléculaire (MEP)

Pour déterminer les sites actifs responsables aux attaques électrophiles et nucléophiles, nous avons choisi d'utiliser les surfaces du potentiel électrostatique moléculaire (MEP) comme un descripteur utile.

MEP illustre la distribution de charge des molécules en trois dimensions et corrèle la distribution de charge totale avec le moment dipolaire, l'électronégativité, les charges partielles et le site de la réactivité chimique d'une molécule [24]. Les différentes valeurs du MEP à la surface des molécules étudiées apparaissent avec les différentes couleurs (Figure IV.15).

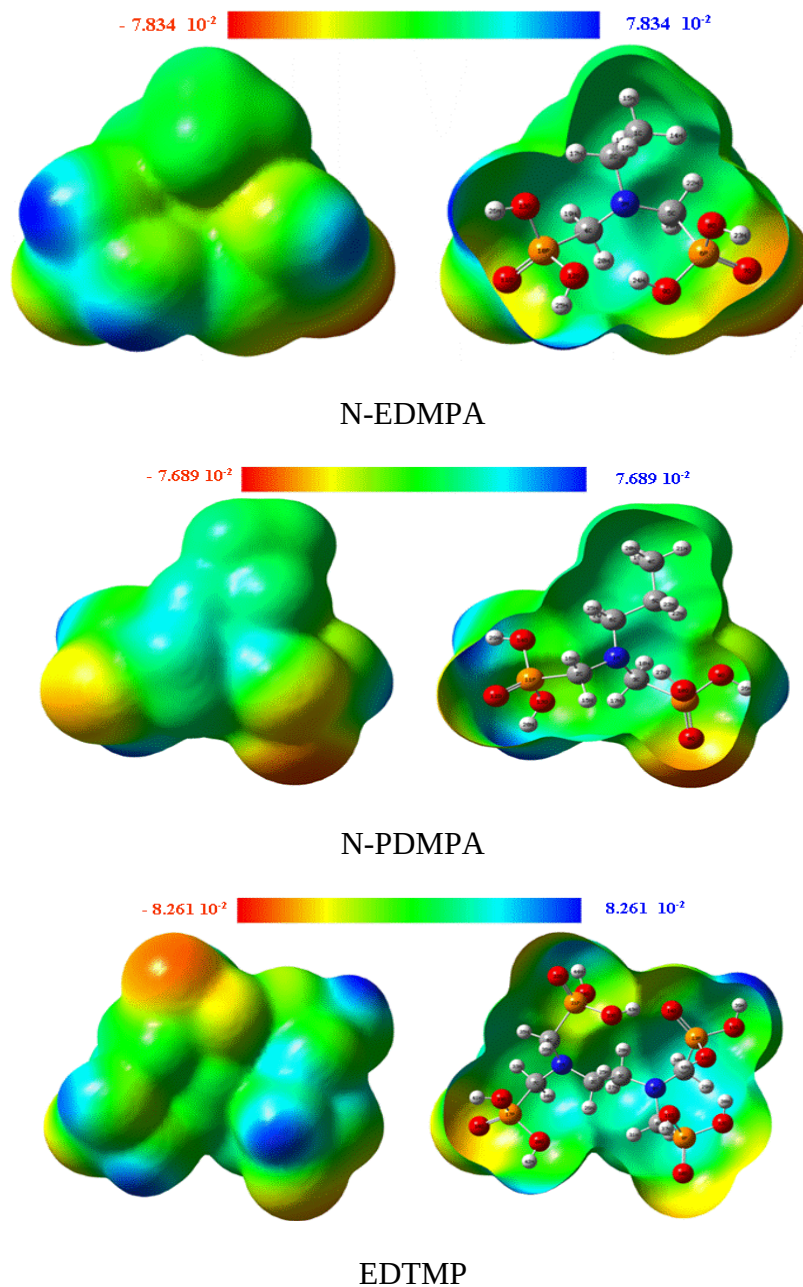


Figure IV.15 : Potentiel électrostatique moléculaire des molécules N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP.

En général, les couleurs rouge et jaune indiquent les régions négatives du MEP et correspondent à la réactivité nucléophile, tandis que la couleur bleue indique les régions positives correspondant à la réactivité électrophile.

Les résultats du MEP montrent que les potentiels négatifs sont présentés par les atomes d'oxygène électronégatifs, alors que les potentiels positifs sont présentés par les atomes d'hydrogène dans tous les composés.

IV.5.3. Charges atomiques des molécules N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP

L'attribution des charges positives et négatives présente un facteur essentiel dans les calculs de chimie quantique; ceci est dû aux différentes propriétés du système moléculaire affecté par les charges atomiques, telles que la structure électronique, la polarisabilité moléculaire, le moment dipolaire et le comportement acide-base [25]. Généralement, l'attribution de charge sur les atomes indique les paires de contributeurs et d'accepteurs incluant le transport de charge dans la molécule [26, 27]. En comparaison avec les charges de Mulliken, les charges NBO sont très fiables, car ils exercent simultanément sur la densité électronique. En outre, l'examen NBO offre une technique puissante pour examiner les liaisons intra et intermoléculaires et l'interaction entre les liaisons, et offre également une base appropriée pour l'examen du transfert de charge ou des interactions de charge ou des interactions conjuguatives dans le système moléculaire. D'autre part, l'analyse NBO peut être utilisée pour évaluer la délocalisation de la densité électronique entre les orbitales de type Lewis occupées et libres, ce qui indique la stabilisation des interactions donneur-accepteur [28].

Dans ce contexte, les composés étudiés sont des molécules comportent des hétéroatomes O, N et P capables d'interagir avec les sites réactifs du récepteur. Pour les composés étudiés, les charges atomiques naturelles des atomes sélectionnés sont listées dans le tableau IV.9. Nous observons clairement que les charges les plus négatives se trouvent sur les atomes : O7, O8, O9, O11, O12 et O13 pour N-EDMPA et O7, O8, O12, O13 et O14 pour le N-PDMPA et O10, O11, O12, O14, O15, O16, O18, O19 et O20 pour l'EDTMP. D'autre part, les charges les plus positives se trouvent sur le P6 de N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP.

Tableau IV.9: Charges atomiques des molécules N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP calculées par B3LYP / 6-31G (d, p).

N-EDMPA		N-PDMPA		EDTMP			
Atom	NBO Charge	Atom	NBO Charge	Atom	NBO Charge	Atom	NBO Charge
C1	-0.6948400	N1	-0.5433800	N1	-0.5172700	H40	0.5505900
C2	-0.2637600	C2	-0.6647600	C2	-0.2801700	H41	0.5275300
N3	-0.5351900	C3	-0.6764000	C3	-0.2702500	H42	0.5236300
C4	-0.6658700	C4	-0.6887400	N4	-0.5460600	H43	0.5475900
C5	-0.6705400	C5	-0.4804200	C5	-0.6624900	H44	0.5244700
P6	2.3891700	C6	-0.2595500	C6	-0.6636600		
O7	-1.0715200	P7	2.3593500	C7	-0.6481700		
O8	-1.0310900	O8	-1.0672900	C8	-0.6604000		
O9	-1.0419400	O9	-1.0282700	P9	2.3830400		
P10	2.3742500	O10	-1.0272300	O10	-1.0561700		
O11	-1.0697000	P11	2.3486100	O11	-1.0526900		
O12	-1.0357400	O12	-1.0687200	O12	-1.0370900		
O13	-1.0201000	O13	-1.0298700	P13	2.4109200		
H14	0.2332600	O14	-1.0230800	O14	-1.0990500		
H15	0.2374100	H15	0.2753800	O15	-1.0146400		
H16	0.2451500	H16	0.2753900	O16	-1.0469400		
H17	0.2496500	H17	0.2761200	P17	2.3353700		
H18	0.2065300	H18	0.2678800	O18	-1.0730700		
H19	0.2520900	H19	0.2312600	O19	-1.0288200		
H20	0.2773400	H20	0.2300500	O20	-1.0268300		
H21	0.2492100	H21	0.2440400	P21	2.3854000		
H22	0.2672000	H22	0.2448200	O22	-1.0784500		
H23	0.5239400	H23	0.2360500	O23	-1.0646500		
H24	0.5303700	H24	0.2266100	O24	-1.0304600		
H25	0.5355900	H25	0.2386700	H25	0.2564300		
H26	0.5291100	H26	0.5242600	H26	0.2298600		
		H27	0.5216000	H27	0.2086900		
		H28	0.5312500	H28	0.2582100		
		H29	0.5263800	H29	0.2760200		
				H30	0.2591500		
				H31	0.2748800		
				H32	0.2490500		
				H33	0.2688900		
				H34	0.2668400		
				H35	0.2632800		
				H36	0.2539400		
				H37	0.5361800		
				H38	0.5323700		
				H39	0.5350100		

La partie positive du récepteur interagit plus probablement avec les sites atomiques chargés négativement des composés étudiés (O et N), tandis que la partie négative du récepteur interagira plus facilement avec les atomes les plus positivement chargés (P et H).

Ces interactions jouent peut-être un rôle essentiel dans la bioactivité des molécules étudiées [29].

Enfin, à partir de l'analyse NBO, nous concluons que l'acidité des atomes d'hydrogène du groupe hydroxyle est très significative pour l'activité antioxydante.

Références bibliographiques

- [1] J. Kubola, S. Siriamornpun, Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro, *Food Chem*, 110 (2008) 881-890.
- [2] B. Tepe, D. Daferera, A. Sokmen, M. Sokmen, M. Polissiou, Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae), *Food Chem*. 90 (2005) 333-340.
- [3] S. Sakanaka, Y. Tachibana, Y. Okada, Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha), *Food Chem*, 89 (2005) 569-575.
- [4] K. Le, F. Chiu, K. Ng, Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii* *Food Chem*. 105 (2007) 353-363.
- [5] YP. Zou, YH. Lu, DZ. Wei, Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *J. Agric. Food Chem*. 52 (2004) 5032-5039.
- [6] S.M. Jeong, S.Y. Kim, D.R. Kim, S.C. Jo, K.C. Nam, D.U. Ahn, S.C. Lee, Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels, *J. Agric. Food Chem*. 52 (2004) 3389–3393.
- [7] D. Vasudevan, H. Wendt, Electroreduction of oxygen in aprotic media, *J. Electroanal. Chem*. 392 (1995) 69-74.
- [8] C. Le Bourvellec, D. Hauchard, A. Darchen, J.L. Burgot, M.L. Abasq, Validation of a new method using the reactivity of electrogenerated superoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoids, *Talanta* 75 (2008) 1098-1103.
- [9] S. Ahmed, F. Shakeel, Antioxidant activity coefficient, mechanism, and kinetics of different derivatives of flavones and flavanones towards superoxide radical, *Czech J. Food Sci*. 30 (2012) 153-163.
- [10] Q. Feng, N.Q. Li, Y.Y. Jiang, Electrochemical studies of porphyrin interacting with DNA and determination of DNA, *Anal. Chim. Acta* 344 (1997) 97-104.
- [11] P. Padmanabhan, S.N. Jangle, Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants, *Int. J. App. Basic. Med. Sci*, 2 (2012) 109-116.
- [12] G. Leelaprakash, S. Mohan Dass, In-vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*, *Int J Drug Dev Res*. 3 (2011) 185-196.

- [13] B. Kar, R. S. Kumar, I. Karmakar, N. Dola, A. Bala, U. K. Mazumder, P. K. Hadar, Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2 (2012) 976-980.
- [14] D. Malagoli, A full-length protocol to test hemolytic activity of palytoxin on human erythrocytes, *ISJ* 4 (2007) 92-94.
- [15] Z. Mohammedi, F. Atik, Hemolytic activity of different herbal extracts used in Algeria, *IJPSR*, 5 (2014) 495-500.
- [16] L. Costa-Lotufo, M. Khan, A. Ather, D. Wilke, P. Jimenez, C. Pessoa, M.E.A. De Moraes, M.O. De Moraes. Studies of the anticancer potential of plants used in Bangladeshi folk medicine. *J Ethnopharmacol*, 99 (2005) 21-30.
- [17] A. Hellal, S. Chafaa, N. Chafai, L. Touafri, Synthesis, antibacterial screening and DFT studies of series of α -aminophosphonates derivatives from aminophenols, *J. Mol. Struct.* 1134 (2017) 217-225.
- [18] P.K. Chattarji, B. Maiti, HSAB Principle Applied to the Time Evolution of Chemical Reactions, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 2705–2710.
- [19] K.D. Sen, D.M.P. Mingos, Chemical hardness, Patri of the structure and bonding, Springer, Berlin, 80 (1993).
- [20] R.G. Pearson, Chemical hardness and density functional theory, *J. Chem. Sci.* 117 (2005) 369-377.
- [21] P. Geerlings, F. de Proft, W. Langenaeker, Conceptual Density Functional Theory, *Chem. Rev.* 103 (2003) 1793-1874.
- [22] A.B. Sawant, C.H. Gill, R.S. Nirwan, Molecular structure and vibrational spectra of 2-[5-(4-chlorophenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl] phenol. *Indian J. Pure Appl. Phys.* 50 (2012) 38 - 44.
- [23] A. Carpy, Importance de la lipophile en modélisation moléculaire, *Analisis.* 27 (1999) 3-5.
- [24] S. Chidangil, M.K. Shukla, P.C. Mishra, A molecular electrostatic potential mapping study of some fluoroquinolone anti-bacterial agents, *J. Mol. Model.* 4 (1998) 250-258.
- [25] I. Sidir, Y.G. Sidir, M. Kumalar, E. Tasal, Ab initio Hartree-Fock and density functional theory investigations on the conformational stability, molecular structure and vibrational spectra of 7-acetoxy-6-(2,3-dibromopropyl)-4,8-dimethylcoumarin molecule, *J. Mol. Struct.* 964 (2010) 134-151.

- [26] S. Fliszar, Charge Distributions and Chemical Effects: a New Approach to the Electronic Structure and Energy of Molecules, Springer-Verlag, New York, 1983.
- [27] Z.B. Maksic, Theoretical Models of Chemical Bonding. Part 3: Molecular Spectroscopy, Electronic Structure and Intramolecular Interactions, first ed., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1991.
- [28] E. Reed, L.A. Curtius, F. Weinhold, Intermolecular interactions from a natural bond orbital, donor-acceptor viewpoint, Chem. Rev. 88 (1988) 899-926.
- [29] Y.N. Mabkhot, F.D. Aldawsari, S.S. Al-Showiman, A. Barakat, S.M. Soliman, M.I. Choudhary, S. Yousuf, M.S. Mubarak, T.B. Hadda, Novel enaminone derived from thieno [2,3-b] thiene: synthesis, x-ray crystal structure, HOMO, LUMO, NBO analyses and biological activity, Chem. Cent. J. 9 (2015) 1-11.

Chapitre V
Propriétés inhibitrices
de corrosion

V. 1. Introduction

La corrosion désigne l'altération d'un matériau par réaction chimique avec un oxydant (le dioxygène et le cation H^+ en majorité). L'étude fondamentale des phénomènes de corrosion relève essentiellement de l'électrochimie [1].

Les phénomènes de corrosion peuvent sérieusement nuire à la bonne santé, soit par allergie et/ou pénétration transcutanée de métaux toxiques (à partir de bijoux portés sur la peau par exemple), soit par corrosion (galvanique notamment) de prothèses interne ou présente dans la bouche (prothèses orthodontiques). Les plombages dentaires (contenant du mercure) ou certaines prothèses orthodontiques peuvent subir des phénomènes galvaniques et de modification de Redox aboutissant à la libération de petites quantités de métaux, ou simplement se dégrader [2].

Pour une approche permettant l'évaluation des capacités des molécules synthétisées à utiliser pour la protection des matériaux employés dans le domaine de santé publique, nous nous présentons dans ce chapitre, les résultats expérimentaux de l'efficacité inhibitrice des acides α -aminophosphoniques (N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP) vis-à-vis de la corrosion de l'acier au carbone XC48 en milieu acide sulfurique (H_2SO_4 ; 0.5 M) établis par la méthode gravimétrique. On présentera notamment l'influence de la concentration et de la structure de l'inhibiteur sur le comportement de l'acier en milieu acide sulfurique. Afin de déterminer le mode d'action de ces inhibiteurs organiques, nous avons calculé et commenté certains paramètres thermodynamiques du processus d'activation et d'adsorption (E_a et ΔG). L'étude expérimentale est couronnée par une étude théorique réalisée par la méthode de simulation de dynamique moléculaire intéressante pour la confirmation des résultats expérimentaux et la prédiction d'applications additionnelles.

V.2. Analyse gravimétrique

V.2.1. Effet de la concentration sur la perte de masse, la vitesse de corrosion et l'efficacité inhibitrice

Les résultats de l'effet de la concertation des inhibiteurs étudiés : EDTMP, N-EDMPA, N-PDMPA sur la perte de masse, la vitesse de corrosion et l'efficacité inhibitrice sont regroupés dans le tableau V. 1.

Tableau V. 1: Les paramètres de corrosion obtenus par gravimétrie de l'acier au carbone XC48 en absence et en présence des inhibiteurs étudiés à différentes concentrations et à 298 K après 24h d'immersion dans la solution corrosive H_2SO_4 ; 0.5M.

Inhibiteur	C (mol/l)	$m_1(g)$	$m_2(g)$	Δm (g)	A_{corr} (g/cm ² h)	$\eta(\%)$	θ
EDTMP	Blanc	55.1054	54.1639	0.9415	0.0055526067	-	-
	10^{-5}	51.6167	51.4945	0.1252	0.0007902843	85.76	0.8576
	5×10^{-5}	55.9008	55.7798	0.121	0.00076377332	86.24	0.8624
	10^{-4}	52.0901	51.9810	0.1091	0.0006886583	87.59	0.8759
	5×10^{-4}	55.1885	55.0830	0.1055	0.0006659345	88.00	0.8800
	10^{-3}	55.3095	55.2198	0.0897	0.0005662021	89.80	0.8980
N-EDMPA	10^{-5}	58.6033	58.4382	0.1651	0.0009736966	82.46	0.8246
	5×10^{-5}	48.8960	48.7552	0.1208	0.0008472199	84.74	0.8474
	10^{-4}	55.3836	55.2650	0.1186	0.0007486239	86.51	0.8651
	5×10^{-4}	50.6551	50.5467	0.1084	0.0006842398	87.67	0.8767
	10^{-3}	57.7820	57.6804	0.1016	0.0005991979	89.20	0.8920
N-PDMPA	10^{-5}	53.8841	53.63920	0.2449	0.001717584	69.06	0.6906
	5×10^{-5}	49.5321	49.3035	0.2286	0.0016032654	71.12	0.7112
	10^{-4}	50.9717	50.7825	0.1892	0.0011942635	78.49	0.7849
	5×10^{-4}	54.0185	53.8363	0.1822	0.0011500783	79.28	0.7928
	10^{-3}	54.9511	54.7924	0.1587	0.0010017422	81.95	0.8195

Les figures V.1 montrent que la perte de masse et la vitesse de corrosion diminuent avec l'augmentation de la concentration des inhibiteurs étudiés dans le milieu corrosif. Ce comportement est lié à la formation d'une couche protectrice des molécules inhibitrices adsorbées sur la surface de l'acier au carbone, ce qui bloque l'attaque agressive de l'acide sulfurique, en protégeant ainsi la surface du fer contre la corrosion.

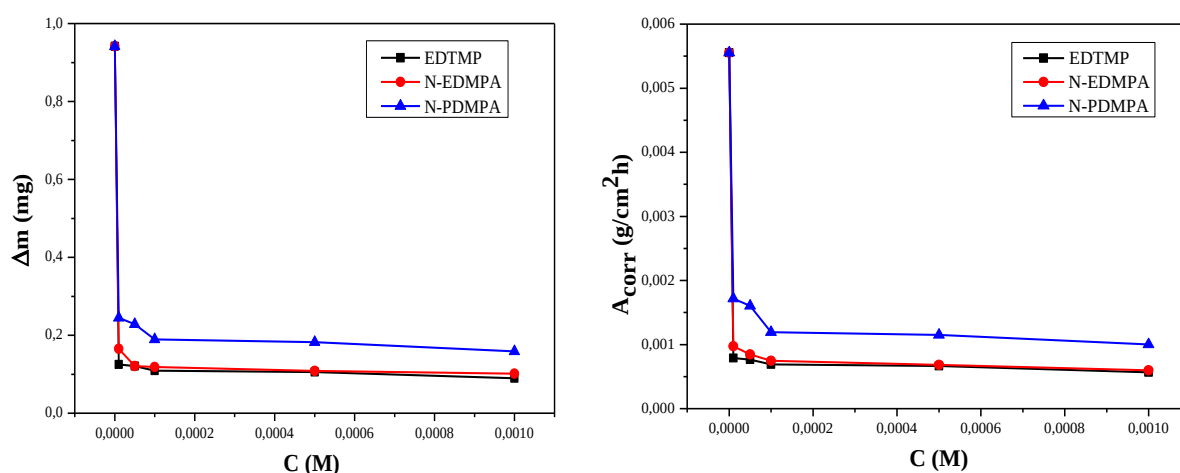


Figure V. 1 : Variation de la perte de masse et la vitesse de corrosion en fonction de la concentration des inhibiteurs étudiés dans le milieu agressif.

L'effet de la concentration sur l'efficacité inhibitrice est présenté par la figure V. 2.

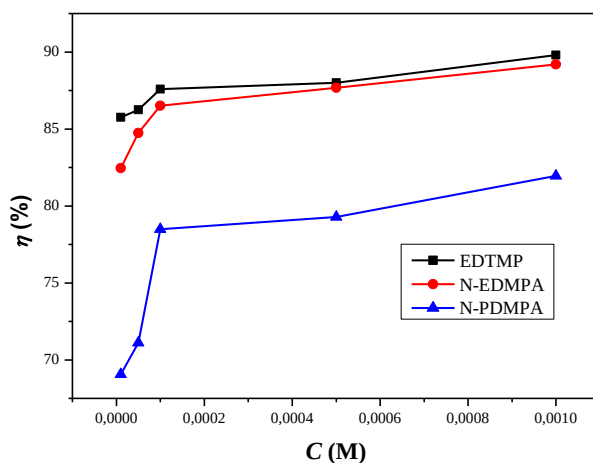


Figure V. 2 : Variation de l'efficacité inhibitrice de corrosion des trois inhibiteurs examinés en fonction de la concentration.

L'examen de cette figure montre que l'efficacité inhibitrice de corrosion des trois inhibiteurs étudiés augmente avec l'augmentation de la concentration. Ceci est expliqué par le recouvrement de la surface de l'acier au carbone XC48 par un film protecteur des molécules inhibitrices adsorbées.

Les histogrammes de la figure V.3 représentent une comparaison de la perte de masse et de la vitesse de corrosion entre les trois inhibiteurs étudiés à la concentration optimale (10^{-3} M). L'examen de ces histogrammes indique que l'EDTMP présente les valeurs les plus faibles de Δm et A_{corr} par rapport à l'N-EDMPA et le N-PDMPA en suivant l'ordre :

$$\Delta m \text{ (N-PDMPA)} > \Delta m \text{ (N-EDMPA)} > \Delta m \text{ (EDTMP)}$$

$$A_{\text{corr}} \text{ (N-PDMPA)} > A_{\text{corr}} \text{ (N-EDMPA)} > A_{\text{corr}} \text{ (EDTMP)}$$

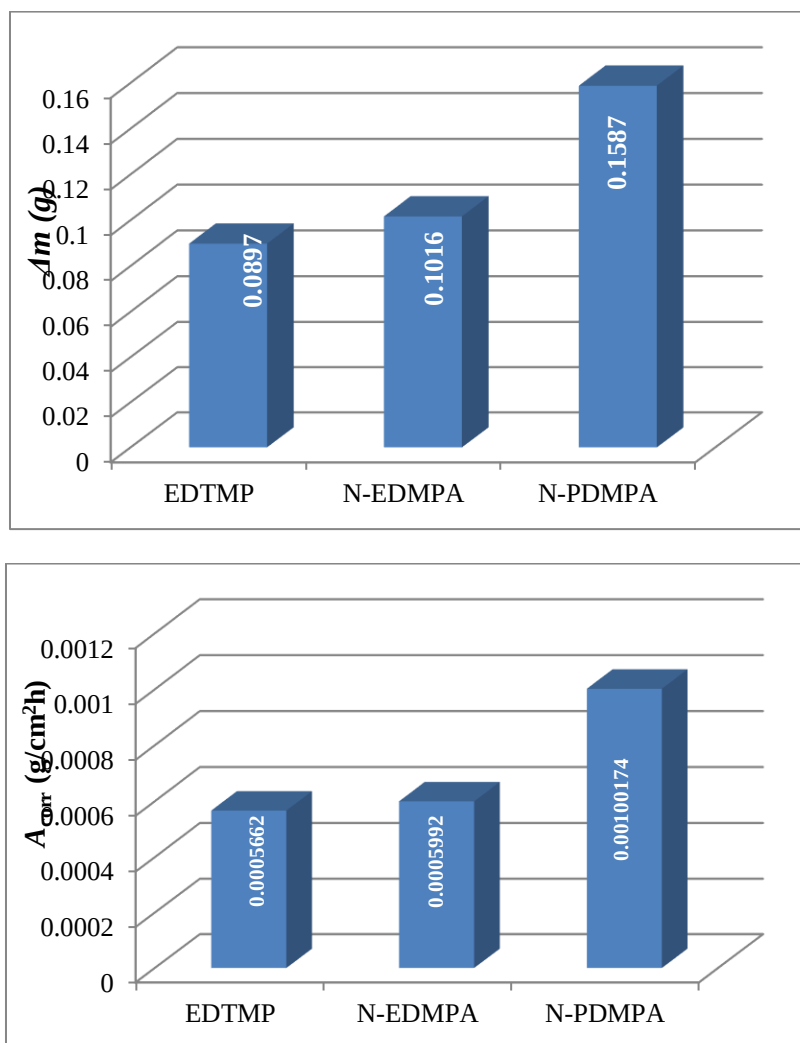


Figure V.3 : Comparaison entre les pertes de masse et les vitesses de corrosion obtenues à la concentration optimale des inhibiteurs étudiés.

La comparaison entre l'efficacité inhibitrice des trois inhibiteurs obtenus à la concentration optimale a été représentée par la figure V.4. Selon cette figure on remarque qu'à 10^{-3} M, l'EDTMP possède l'efficacité la plus élevée par rapport au N-EDMPA et N-PDMPA. La valeur la plus élevée de l'efficacité de l'EDTMP est liée probablement à la présence d'un nombre d'hétéroatomes (N et O) plus élevée dans sa structure moléculaire en comparant avec le N-EDMPA et le N-PDMPA.

$$\eta(\%) \text{ (N-PDMPA)} > \eta(\%) \text{ (N-EDMPA)} > \eta(\%) \text{ (EDTMP)}$$

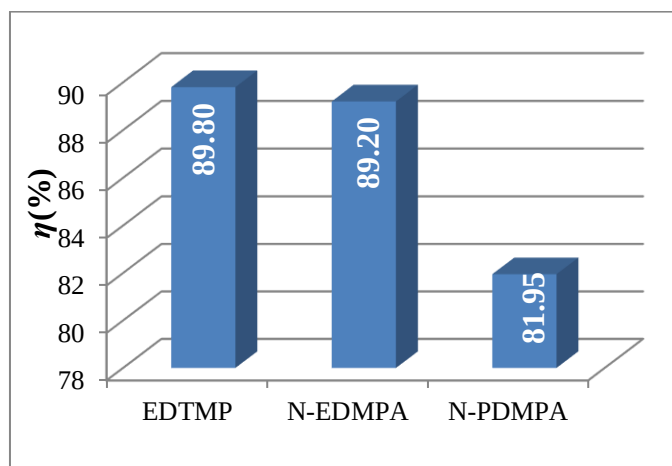


Figure V.4 : Comparaison entre les efficacités inhibitrices obtenues à la concentration optimale des trois inhibiteurs étudiés.

V.2.2. Isothermes d'adsorption et détermination des paramètres thermodynamiques

La fixation des molécules organiques sur les surfaces solides se fait généralement par adsorption. Ce phénomène explique le mode d'action de la majorité des inhibiteurs organiques sur les surfaces métalliques. Généralement, on distingue deux types d'adsorption et ceci selon la nature des interactions entre les molécules inhibitrices et de la surface métallique: la chimisorption et la physisorption. En outre, les isothermes d'adsorption sont un moyen très utilisé pour déterminer la nature des interactions entre les inhibiteurs et la surface métallique. Plusieurs isothermes d'adsorption ont été développés dans la littérature pour modéliser le processus d'adsorption, tel que : Langmuir, Temkin et Frumkin [3]. En effet, les isothermes d'adsorption sont employées pour ajuster les valeurs du taux de recouvrement (θ) à différentes concentrations en inhibiteur.

La modélisation de l'adsorption des inhibiteurs étudiés sur la surface de l'acier au carbone XC48 a été effectuée en utilisant les isothermes d'adsorption. En outre, les paramètres thermodynamiques ont été calculés afin de déterminer le type d'adsorption.

Le modèle caractéristique de l'isotherme d'adsorption de Langmuir est donné par l'équation suivante:

$$\frac{C_{inh}}{\theta} = \frac{1}{K_{ads}} + C_{inh} \quad (V.1)$$

Où : K_{ads} : est la constante d'équilibre du processus d'adsorption.

C_{inh} : la concentration de l'inhibiteur dans la solution.

Le modèle caractéristique de l'isotherme d'adsorption de Temkin est donné par l'équation suivante:

$$\exp(-2a\theta) = K_{ads}C \quad (V.2)$$

Le modèle caractéristique de l'isotherme d'adsorption de Frumkin est donné par l'équation suivante:

$$\left(\frac{\theta}{1-\theta}\right) \exp(2a\theta) = K_{ads}C \quad (V.3)$$

Les figures V. 5 (a, b et c) représentent les ajustements linéaires des équations des isothermes de différents types obtenus selon les relations : V.1, V.2 et V.3.

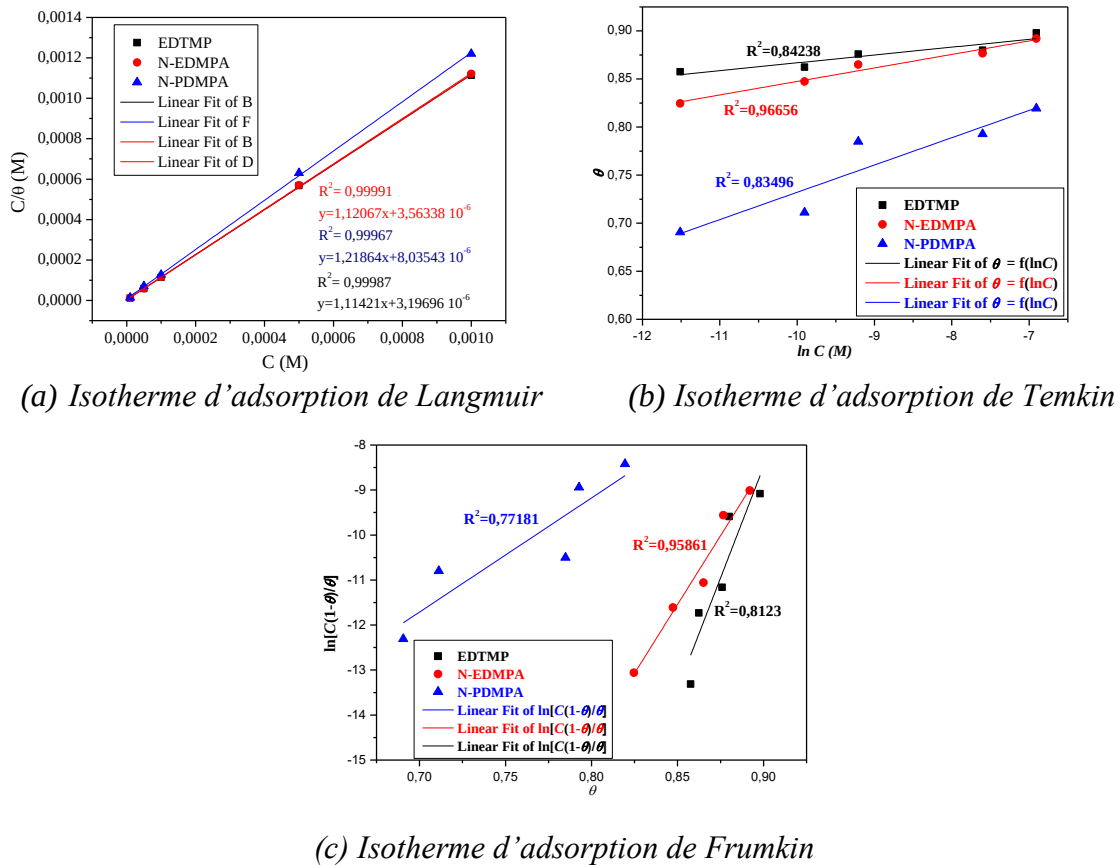


Figure V.5 : Isothermes d'adsorption de (a)Langmuir, (b) Temkin (c) Frumkin de l'acier au carbone XC48 dans H_2SO_4 ; 0.5M en présence des inhibiteurs étudiés à 25°C.

La comparaison entre les graphes d'ajustement linéaires et leurs coefficients de corrélations R^2 des inhibiteurs étudiés, montre que les trois isothermes testées et obtenues en exploitant la formule, $C_{inh}/\theta = f(C_{inh})$, sont des lignes droites et que le coefficient de corrélation R^2 d'isotherme d'adsorption de Langmuir est le plus proche de 1 ($R^2_{EDTMP} = 0.99991$, $R^2_{N-EDMPA} = 0.99967$, $R^2_{N-PDMPA} = 0.99987$), ceci mène à conclure que l'adsorption des trois inhibiteurs sur la surface de l'acier au carbone XC48 est obéi à l'isotherme d'adsorption de Langmuir.

Les valeurs des constantes d'équilibre d'adsorption (K_{ads}) des trois inhibiteurs ont été déterminées à partir des valeurs des réciproques de l'interception des lignes isothermes, les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau V. 2. Généralement, les valeurs élevées de la constante d'équilibre d'adsorption indiquent qu'il y a des fortes interactions entre les molécules adsorbées et la surface du métal, ceci peut être attribué à la présence d'un nombre important des hétéroatomes (O, N et P) dans les structures moléculaires des trois inhibiteurs.

L'énergie libre standard d'adsorption (ΔG_{ads}^0) est un paramètre important lié à la constante d'équilibre d'adsorption (K_{ads}) par l'équation suivante [4, 5]:

$$\Delta G_{ads}^0 = -RT \ln(55.5 K_{ads}) \quad (V.4)$$

Où : R : est la constant du gaz parfait ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$).

T : est la température absolue (K).

La valeur 55.5 : est la concentration de l'eau en solution (M).

Le tableau V.2 montre que les valeurs de ΔG_{ads}^0 obtenues pour l'EDTMP, le N-EDMPA et le N-PDMPA sont : $-40.6060 \text{ kJ mol}^{-1}$, $-40.3427 \text{ kJ mol}^{-1}$ et $-38.3612 \text{ kJ mol}^{-1}$, respectivement. Généralement les valeurs négatives de ΔG_{ads}^0 indiquent la spontanéité du processus d'adsorption des molécules inhibitrices sur la surface de l'acier et les fortes interactions entre l'inhibiteur et la surface métallique.

Il est bien connu dans la littérature que les valeurs de ΔG_{ads}^0 aux alentours de -20 kJ mol^{-1} ou moins négatives sont associés aux interactions électrostatiques entre les molécules chargées et le métal chargé (adsorption physique), tandis que celles plus négatives que -40 kJ mol^{-1} impliquent le partage ou le transfert de charge entre les molécules inhibitrices et la surface du métal par formation des liaisons covalentes (adsorption chimique) [6]. Pour les inhibiteurs étudiés les valeurs de ΔG_{ads}^0 calculées (Tableau V. 2) sont aux alentours de -40 kJ mol^{-1} , ce qui indique probablement que l'adsorption des trois inhibiteurs sur la surface de l'acier au carbone est une adsorption chimique.

Tableau V. 2: Paramètres thermodynamiques de l'adsorption des inhibiteurs étudiés à la surface de l'acier au carbone XC48 dans H_2SO_4 ; 0.5M à 25°C.

Inhibiteur	Pente	Ordonnée à l'origine	$K_{ads} (M^{-1})$	R^2	$\Delta G_{ads}^0 (kJ mol^{-1})$
EDTMP	1.11421	$3.19696 \cdot 10^{-6}$	$0.3127 \cdot 10^6$	0.99991	- 40.6060
N-EDMPA	1.12067	$3.56338 \cdot 10^{-6}$	$0.2806 \cdot 10^6$	0.99967	- 40.3427
N-PDMPA	1.21864	$8.03543 \cdot 10^{-6}$	$0.1244 \cdot 10^6$	0.99987	-38.3612

V.2. Simulation de la dynamique moléculaire du processus d'adsorption

L'étude et la compréhension des interactions entre les molécules inhibitrices et la surface de l'acier au carbone ont été effectuées théoriquement par la méthode de simulation de dynamique moléculaire (MDS). La méthode MDS est largement utilisée pour déterminer d'une part les différentes configurations d'adsorption et d'autre part le système d'interaction entre les molécules inhibitrices de corrosion et la surface de l'acier.

V.2.1. Configurations d'adsorption entre les inhibiteurs étudiés et la surface du Fe(110)

Les configurations d'équilibre d'adsorption des molécules inhibitrices étudiées sur la surface de Fe (110) sont représentées sur la figure V. 6. L'examen de cette figure montre clairement que les trois molécules sont adsorbées sur la surface de Fe (110) en mode (position) parallèle des structures rigides des inhibiteurs par rapport à la surface de l'acier, ce qui confirme les fortes interactions entre les trois molécules et les atomes du fer.

A partir des structures moléculaires des trois inhibiteurs, on peut dire que l'adsorption sur la surface de l'acier au carbone est possible en partageant les électrons de l'azote et de l'oxygène présent dans les molécules inhibitrices avec le fer et la formation des liaisons de coordination entre eux (interactions chimiques). En outre, les forces de dispersion de Van Der Waals entraînent des interactions physiques entre les molécules inhibitrices et la surface métallique, ce qui peut être contribué à l'attraction de la surface propre à la molécule.

Généralement, ce mode d'adsorption peut être attribué à la forte interaction entre les trois molécules étudiées et la surface métallique. Ceci est lié à la présence des atomes d'oxygène et d'azote riches en doublets d'électrons libres dans les structures moléculaires des inhibiteurs étudiés, ce qui permet d'offrir des électrons à l'orbitale « **d** » inoccupée du fer pour former des liaisons de coordination qui distinguent les complexes métalliques.

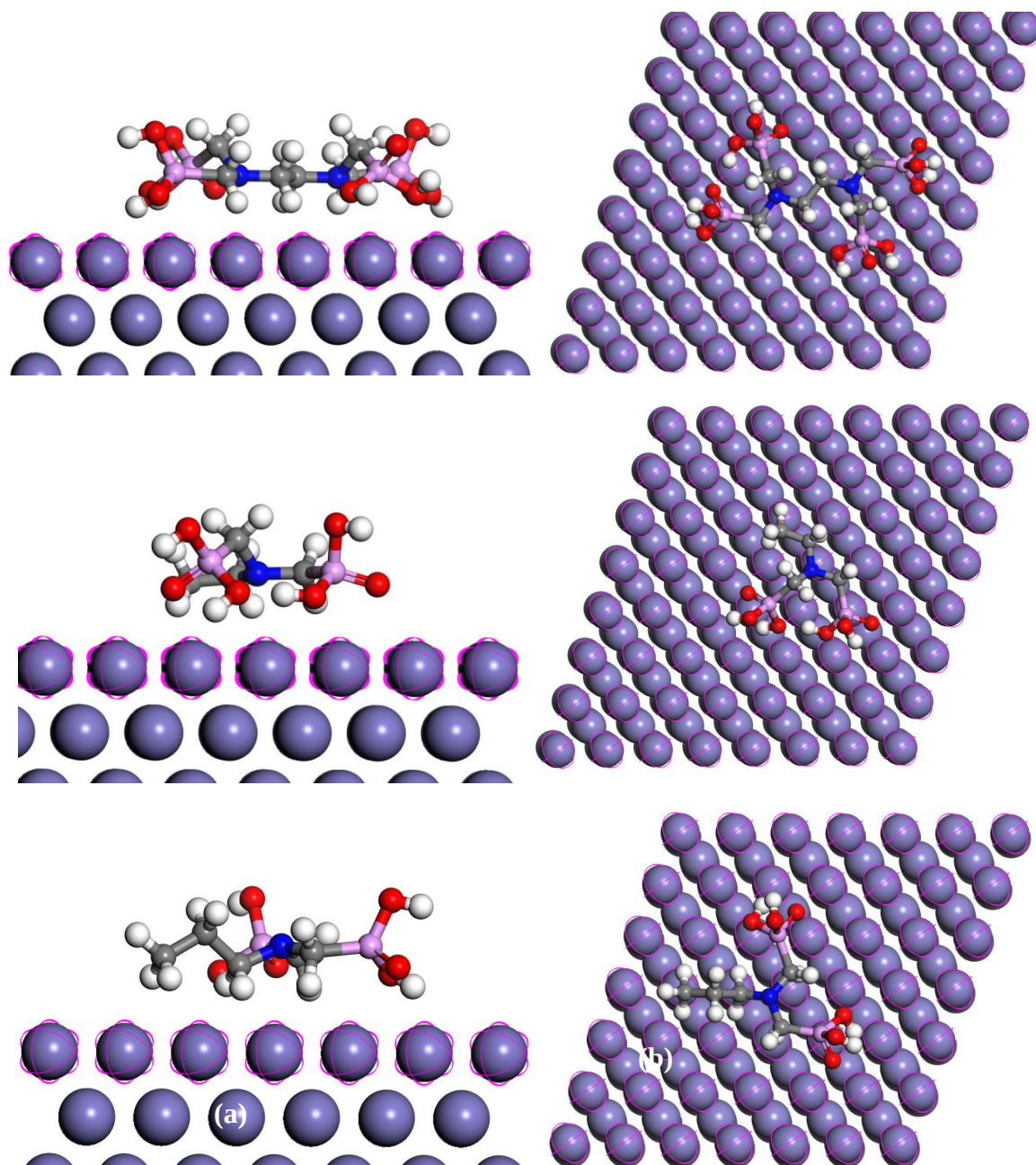


Figure V.6: Configurations d'équilibre d'adsorption des molécules inhibitrices sur la surface Fe (110) : (a) EDTMP, (b) N-EDMPA et (c) N-PDMPA. À gauche: vue de dessus et à droite: vue de profil.

Les différentes énergies des systèmes simulés ont été calculées et les résultats que nous avons obtenus sont regroupés dans le tableau V.3.

Dans les calculs effectués, on a considéré que l'énergie du substrat (surface du fer) est égale à zéro. L'énergie totale est définie comme la somme des énergies des composés adsorbés, l'énergie rigide d'adsorption est l'énergie de déformation. L'énergie d'adsorption est l'énergie nécessaire pour que le composé soit adsorbé sur la surface de métal. En outre,

l'énergie d'adsorption rapporte l'énergie libérée (ou requise) lorsque les détendus sont adsorbés sur le substrat. L'énergie d'adsorption est définie comme la somme de l'énergie rigide d'adsorption et l'énergie de déformation pour les composés de l'adsorbat. L'énergie rigide d'adsorption rapporte l'énergie libérée (ou requise) lorsque les composés adsorbés non relaxés (c'est-à-dire avant l'étape d'optimisation de la géométrie) sont adsorbés sur le substrat. L'énergie de déformation rapporte l'énergie libérée lorsque les composés adsorbés sont détendus sur la surface du substrat. Selon le processus de simulation, l'inhibiteur EDTMP donne l'énergie maximale d'adsorption en valeur négative (tableau V. 3). Généralement, les valeurs élevées de l'énergie d'adsorption obtenues dans le cas de la molécule EDTMP expliquent leur plus haute efficacité inhibitrice.

Tableau V.3: Les énergies calculées entre les molécules inhibitrices étudiées et la surface du Fe (110).

Système	Energie totale	Energie d'adsorption	Energie rigide d'adsorption	Energie de déformation
Fe + EDTMP	-162.79119440	-149.60176794	-156.75218336	7.15041542
Fe + N-EDMPA	-119.18508984	-101.09554324	-105.69724819	4.60170495
Fe + N-PDMPA	-110.15016820	-91.68453676	-92.57192527	0.88738851

V.3. Conclusion

Les molécules inhibitrices étudiées, dans ce travail, possèdent un certain nombre de doublets d'électrons libres appartenant aux hétéroatomes d'oxygène, d'azote et de phosphore, permettant ainsi de fournir facilement des électrons aux orbitales (d) inoccupées dans la structure du fer, ceci mène à la formation de liaisons de coordinations fortes et par conséquent, ces molécules sont susceptibles de s'adsorber sur la surface du fer et de former des couches d'adsorption stables, ces dernières, protègent l'acier contre l'attaque corrosive du milieu agressif.

Références bibliographiques

- [1] B. Normand, N. Pébère, C. Richard et M. Wery, Prévention et lutte contre la corrosion : une approche scientifique et technique, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (PPUR), **2004**.
- [2] D. Benguira, Influence d'un rince-bouche fluoré sur la corrosion galvanique entre un fil NiTi ou un fil CuNiTi et différents boîtiers orthodontiques : incidence sur les propriétés mécaniques des fils, Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc), Université de Montréal, **2010**.
- [3] O.O. Xomet, N.V. Likhanova, M.A.D. Anguilar, E. Arce, H. Dorantes, P.A. Lozada, Synthesis and corrosion inhibition of α -amino acids alkylamides for mild steel in acidic environment, Mater Chem Phys 110 (2008) 344–351.
- [4] X. Li, S. Deng, H. Fu, Allyl thiourea as a corrosion inhibitor for cold rolled steel in H_3PO_4 solution, Corros. Sci. 55 (2012) 280–288.
- [5] S. Şafak, B. Duran, A. Yurt, G. Türkoğlu, Schiff bases as corrosion inhibitor for aluminium in HCl solution, Corros. Sci. 54 (2012) 251–259.
- [6] F. Bentiss, M. Lagrenee, M. Traisnel, J.C. Hornez, The corrosion inhibition of mild steel in acidic media by a new triazole derivative, Corros. Sci. 41 (1999) 789–803.



Conclusion générale

Conclusion générale

Dans le présent travail, nous avons synthétisé trois molécules bioactives appartenant à la famille des acides α -aminophosphoniques par la réaction de Moedritzer-Irani à partir de trois amines primaires en milieu aqueux. Les composés obtenus sont des solides stables caractérisés par des points de fusion élevés.

La spectrophotométrie UV-Vis a permis de différencier et de confirmer l'obtention de nouveaux produits par le déplacement significatif de leurs bandes d'absorption par rapport à celles caractéristiques des produits de départ.

La spectroscopie infrarouge ATR-FTIR indique la disparition des pics caractéristiques des amines primaires et l'apparition de nouveaux pics caractérisant les groupements phosphonates (P=O, P-OH, P-C.).

L'analyse des produits synthétisés par la spectroscopie de résonance magnétique RMN de ^1H , ^{13}C et ^{31}P confirme les structures attendues.

L'évaluation de l'activité antioxydante des molécules synthétisées a été réalisée par voix classique (la capacité de piégeage du radical DPPH, le pouvoir réducteur de fer, β -carotène) et par voix électrochimique (méthode de la voltamétrie cyclique VC).

Les résultats obtenus par les techniques classiques montrent que ces composés sont des antioxydants efficaces et présentent une bonne capacité de piégeage vis-à-vis des différents radicaux utilisés et que les valeurs de l' IC_{50} obtenues sont comparables à celles du standard BHT.

La voltamétrie cyclique utilisé dans cette étude, montre l'effet de piégeage sur le radical anion superoxyde et indique la forte interaction entre le radical et les trois acides synthétisés, ceci est quantifié par les valeurs élevées obtenues pour K_b . D'autre part, le signe négatif de ΔG° suggère la spontanéité de la réaction antiradicalaire. Selon cette méthode, nous pouvons également proposer que le mécanisme de la réaction est un transfert d'atome d'hydrogène.

L'activité anti-inflammatoire des acides phosphoniques synthétisés est équivalente à celle de l'aspirine et l'augmentation du nombre des groupements phosphonates permis d'améliorer cette activité.

Les molécules synthétisées possèdent toutes une activité antibactérienne contre les microbes pathogènes, quoique que les diamètres des zones d'inhibition soient relativement faibles.

L'activité hémolytique des acides α -aminophosphoniques synthétisés dépende de la concentration, mais tous les acides ont un effet hémolytique faible sur les globules rouges humains.

Les testes de l'efficacité inhibitrice de corrosion de l'acier au carbone XC48 effectués en milieu H_2SO_4 ; 0.5 M par la méthode gravimétrique, montrent que les molécules étudiées sont des inhibiteurs de corrosion efficaces et que leurs efficacités augmentent avec l'augmentation de leurs concentrations en milieu agressif. En outre, le composé EDTMP présente l'efficacité la plus élevée avec un taux d'inhibition de 89.80 %.

Pour une meilleure compréhension de l'activité, les paramètres de la chimie quantique ont été calculés en utilisant la méthode DFT. Une bonne corrélation était visible entre les valeurs rapportées expérimentalement et les paramètres de la chimie quantiques calculés tels que les valeurs de ΔE_{GAP} , μ et NBO.

Les résultats de la simulation de la dynamique moléculaire MDS indiquent que les acides testés sont adsorbés parallèlement à la surface du métal, ce qui confirme la forte interaction avec les atomes du fer. En plus, les valeurs des énergies d'adsorption et des énergies de liaison calculées pour les inhibiteurs étudiés indiquent que le composé EDTMP présente l'énergie d'adsorption la plus négative et l'énergie de liaison la plus élevée, ceci est conduit à des interactions EDTMP/surface plus stables, ce qui confirme leur efficacité inhibitrice élevée.

Les perspectives envisagées au terme de ce travail de thèse peuvent être présenter comme suit:

- ✓ la synthèse des acides α -aminophosphoniques hétérocycliques et cycliques riches en groupements chromophoriques.
- ✓ étude de l'affinité des molécules synthétisées à former des complexes solides et en solution avec les métaux de transition, les lanthanides et les actinides.
- ✓ poursuite de la mise en évidence des activités biologiques et pharmaceutiques des molécules synthétisées, notamment l'étude de leur intérêt dans la lutte contre le cancer et la tuberculose.
- ✓ collaboration avec les chercheurs et les organismes intéressés par la protection de l'environnement et la lutte contre la corrosion.

ملخص:

تم اصطناع ثلاثة أحماض α - امينو فوسفونية : N-EDMPA ، N-PDMPA و EDTMP في هذا العمل و قد تم التأكد من بنيتها بواسطة طرق التحليل الطيفي: UV-Vis , FT-IR و NMR. و لقد سمحت دراسة الخواص البيولوجية التي أجريت على هذه المركبات بتقييم نشاطها المضاد للأوكسدة بالطريقة الكهروكيميائية (vc) وبالطرق التقليدية (الكسح الراديكالي DPPH ، وقياس قوة FRAP المضادة للأوكسدة الحديدي وتبييض β -carotene) ، كما تم تقييم نشاطها المضاد للالتهاب ، و نشاطها المضاد للبكتيريا وكذا تقييم نشاطها الانحلالي. النتائج التي تم الحصول عليها، تم تأكيدها بطرق حسابات الكيمياء الكمية (DFT) ووفق هذه النتائج فإن الجزيئات المحضرة تمتلك خصائص بيولوجية واعدة. يمكن لظاهرة التآكل أن تضر بالصحة العمومية بشكل جاد، ولهذا السبب قمنا باستغلال طريقة فقدان الوزن لدراسة كفاءة الجزيئات المحضرة لتنشيط التآكل في الوسط الحمضي (H_2SO_4 ; 0.5 M) حيث تبين أنها مثبطات فعالة، كما بينا أيضاً طبيعة التداخل بين المثبطات و سطح (110) Fe بواسطة حسابات المحاكاة الديناميكية الجزيئية (MDS).

الكلمات المفتاحية: اصطناع. ألفا- امينو فوسفونات. مضادات الأوكسدة. مضادات الالتهابات ، مضادات للجراثيم ، انحلال الدم. تآكل.

Abstract:

Three α -aminophosphonic acids: N-EDMPA, N-PDMPA and EDTMP were synthesized, their structures were confirmed by spectroscopic methods: UV-Vis, FT-IR, 1H NMR, ^{13}C NMR and ^{31}P NMR. The study of the biological properties of the synthesized compounds allowed the evaluation of the antioxidant activity electrochemically (vc) and by conventional methods (DPPH radical scavenging, measurement of the Ferric reducing-antioxidant power FRAP and bleaching of β -carotene), evaluation of anti-inflammatory activity, evaluation of antibacterial properties and evaluation of hemolytic activity. The obtained results have been confirmed by calculations of quantum chemistry (DFT) and show that the synthesized molecules have promising biological properties.

Corrosion phenomena can seriously harm health, for this reason we have exploited the gravimetric method to study the corrosion inhibitory efficiency of synthesized molecules in acidic medium (H_2SO_4 ; 0.5 M), it has been shown that they are effective inhibitors. We also determined interactions between inhibitors and the surface of Fe (110) by Molecular Dynamics Simulation (MDS) calculations.

Key words: *Synthesis; α -aminophosphonates; antioxidant; anti-inflammatory, antibacterial, hemolysis; corrosion.*

Résumé :

Trois acides α -aminophosphoniques : N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP, ont été synthétisés, leurs structures ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques : UV-Vis, FT-IR, RMN 1H , RMN ^{13}C et RMN ^{31}P . L'étude des propriétés biologiques des composés synthétisés a permis l'évaluation de l'activité antioxydante par voie électrochimique (vc) et par les méthodes classiques (piégeage du radical DPPH, mesure du pouvoir réducteur du fer ferrique FRAP et blanchissement du β - carotène), l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, évaluation des propriétés antibactériennes et évaluation l'activité hémolytique. Les résultats obtenus ont été confirmées par les calculs de la chimie quantique (DFT) et montrent que les molécules synthétisées présentent des propriétés biologiques prometteuses.

Les phénomènes de corrosion peuvent sérieusement nuire à la santé, pour cette raison nous avons exploité la méthode gravimétrique pour étudier l'efficacité inhibitrice de corrosion des molécules synthétisées en milieu acide (H_2SO_4 ; 0.5 M) et on a démontré que ces molécules sont des inhibiteurs efficaces. Nous avons également déterminé les interactions entre les inhibiteurs et la surface du Fe(110) par les calculs de simulations de la dynamique moléculaire (SDM).

Mots clés : *Synthèse ; α -aminophosphonates ; antioxydant ; anti-inflammatoire, antibactérienne, hémolyse, corrosion.*